

Departement Pferde der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. med. vet. Jörg A. Auer, MS, Dipl. ACVS/ECVS

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

***Experimentelle Untersuchung der Frakturheilung langer
Röhrenknochen nach Fixation mit winkelstabilen Implantaten
mit und ohne mechanischer Dynamisierung an der Cis-Kortex***

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse Fakultät
Universität Zürich

vorgelegt von
Maren Lesser
Tierärztin
aus Brotterode (Deutschland)

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin
Prof. Dr. med. vet. Karl Nuss, Korreferent

Zürich 2010

Meinem Vater

Zusammenfassung.....	1
Summary	2
1 <i>Einleitung</i>.....	3
1.1 Problemstellung	3
1.2 Zielsetzung der Arbeit.....	3
2 <i>Literaturübersicht</i>	5
2.1 Der Knochen als biomechanische Einheit	5
2.2 Knochenheilung	6
2.2.1 Primäre Knochenheilung.....	6
2.2.2 Sekundäre Knochenheilung	7
2.2.3 Biomechanische Einflüsse	7
2.3 Die Entwicklung von winkelstabilen Plattenosteosynthesen	9
2.3.1 Aktuelle Tendenzen	11
3 <i>Material und Methoden</i>.....	13
3.1 Implantatdesign	13
3.2 Aufbau der Studie.....	15
3.3 Versuchstiere.....	15
3.4 Operation.....	16
3.4.1 Vorbereitung und Anästhesie.....	16
3.4.2 Chirurgischer Eingriff.....	18
3.4.3 Postoperatives Management	19
3.5 Probengewinnung und –aufbereitung.....	20
3.6 Untersuchungsmethoden und Probenauswertung.....	24
3.6.1 Radiologische Auswertung	24
3.6.1.1 Röntgenbilder	24
3.6.1.2 Mikroradiographien.....	25
3.6.1.3 CT-Auswertung	25
3.6.2 Auswertung der mechanischen Testungen.....	26
3.6.2.1 Biegesteifigkeit.....	26
3.6.2.2 Maximales Drehmoment	27
3.6.2.3 Torsionssteifigkeit	27
3.6.2.4 Bruchenergie	27
3.6.3 Histologische Auswertung	27
3.6.3.1 Histomorphometrische Auswertung der Dickschnitte	27

3.6.3.2	Auswertung der Fluoreszenzschnitte	29
3.6.4	Statistische Auswertung	30
4	Resultate.....	31
4.1	Operation	31
4.2	Postoperative Phase	31
4.3	Radiologische Auswertung.....	32
4.3.1	Röntgenbilder	32
4.3.2	Mikroradiographien.....	34
4.3.3	CT.....	34
4.3.3.1	Kallusvolumen	35
4.3.3.2	Knochenmineraldichte	35
4.3.3.3	Knochenmineralkonzentration.....	36
4.3.3.4	Maximale Querschnittsfläche	36
4.4	Mechanische Testungen.....	37
4.4.1	Biegesteifigkeit	37
4.4.2	Maximales Drehmoment	38
4.4.3	Torsionssteifigkeit.....	38
4.4.4	Bruchmuster	38
4.4.5	Bruchenergie	39
4.5	Histologische Auswertung	40
4.5.1	Histomorphometrie der Dickschnitte	40
4.5.1.1	Übersicht.....	40
4.5.1.2	B-Methode	41
4.5.1.3	M-Methode	42
4.5.2	Fluoreszenzschnitte	47
5	Diskussion.....	50
5.1	Ziel der Studie	50
5.2	Tiermodell.....	50
5.3	Aufbau der Studie	51
5.4	Operation und postoperative Phase	52
5.5	Probengewinnung und -aufbereitung.....	54
5.6	Untersuchungsmethoden und Probenauswertung	55
5.6.1	Radiologische Auswertung	55
5.6.1.1	Röntgenbilder	55
5.6.1.2	Vergleich der Mikroradiographien	56

5.6.1.3	CT-Auswertung	57
5.6.2	Auswertung der mechanischen Testungen	58
5.6.2.1	Biegesteifigkeit	60
5.6.2.2	Torsionssteifigkeit	61
5.6.2.3	Maximales Drehmoment	61
5.6.2.4	Bruchmuster	62
5.6.2.5	Bruchenergie	62
5.6.3	Histologische Auswertung	63
5.6.3.1	Histomorphometrische Auswertung der Dickschnitte	63
5.6.3.2	Auswertung der Fluoreszenzschnitte	65
5.7	Schlussfolgerung und Perspektiven	67
6	<i>Literaturverzeichnis</i>	68
7	<i>Abkürzungsverzeichnis</i>	73
8	<i>Anhang</i>	74
8.1	Tabellen	74
8.2	Diagramme	87
8.3	Abbildungen	99

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Frakturheilung mit konventionellen winkelstabilen Implantaten (LP) im Vergleich zu modifizierten LP-Konstrukten (Far Cortical Locking, FCL) untersucht. Diese ermöglichten durch ein spezielles Schraubendesign eine mechanische Dynamisierung an der Cis-Kortex.

An 19 Schafen wurde eine 90°-Tibiaosteotomie durchgeführt. Die Tiere wurden in 3 Gruppen eingeteilt und mit LP- oder FCL-Konstrukten versorgt. Wöchentliche Röntgenaufnahmen dokumentierten den Heilungsverlauf bis zur Schlachtung 9 Wochen post OP. Es folgten CT-Auswertung von Kallusvolumen und Mineralgehalt sowie mechanische Tests an den Tibiae. Die histologische Auswertung beinhaltete die quantitative Erfassung alter und neuer Knochenmatrix.

Der Kallusflächeninhalt der FCL-Gruppen war signifikant grösser gegenüber der LP-Kontrollgruppe. Ebenso wurden signifikant höhere Werte für Kallusvolumen und Mineralgehalt festgestellt. Es konnte eine gleichmässige Verteilung von Kallus und Mineralgehalt gezeigt werden. Die Knochen verheilten signifikant besser und absorbierten eine mehr als 2,5fach höhere Bruchenergie. Alle Kortizes waren vollständig überbrückt. Ebenfalls wurde tendenziell mehr neue Knochenmatrix quantifiziert.

FCL-Konstrukte ermöglichen trotz hoher Stabilität eine flexible Fixation von Frakturen. Die daraus resultierende, fast parallele interfragmentäre Bewegung stimuliert die Ausbildung von mehr und qualitativ hochwertigerem Kallus. Frakturen, die mit FCL-Implantaten versorgt wurden, scheinen somit besser zu heilen als solche mit LP-Implantaten.

Summary

In the present study healing of fractures stabilized with generic locking plate constructs compared to a modified locked plating approach was analyzed. The “far cortical locking construct” (FCL) permits mechanical dynamisation of the cis-cortex due to a new screw design. An *in vivo* ovine tibial osteotomy model was used. Nineteen Sheep were split into three groups for stabilization with LP or FCL constructs. Weekly radiographs documented fracture healing until the sheep were sacrificed 9 weeks post surgery. Thereafter, callus volume and mineral content were measured through CT and the tibiae were tested mechanically while the amount of old and new bone matrix were analyzed histologically.

The callus of the FCL groups was significantly greater compared to the LP-control group. Also a greater callus volume and mineral content as well as an equal distribution of callus and mineral content were detected. The FCL groups healed significantly better and sustained a 2.5 times higher energy to failure. Histologically, all cortices had completely bridged and rather more new bone matrix was detected.

FCL constructs cause flexible fixation while retaining the strength of the construct. So, mechanical dynamisation induced by nearly parallel interfragmentary motion initiates more and improved callus formation at the cis-cortex. Terminal, compared to LP constructs, FCL constructs seems to result in enhanced fracture healing.

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Winkelstabile Implantate (Locking Plates, LPs) werden heute zur Stabilisierung von vielen Frakturformen eingesetzt. Unter dem Mantel der so genannten biologischen Osteosynthese berücksichtigen sie zwei Bedingungen, nämlich erstens: Schonung des Weichteilgewebes und damit Sicherung der notwendigen Blutversorgung und zweitens: hohe mechanische Stabilität der Frakturregion durch eine gleichfalls hohe Steifigkeit des Konstrukts an sich. Die Heilung von Frakturen, die mit winkelstabilen, nicht komprimierenden Implantaten versorgt werden, beruht auf sekundärer Knochenheilung. Diese wird zu einem beachtlichen Anteil auch durch Mikrobewegungen im Frakturspalt verbessert^{1,2}. Aufgrund des geringen Abstandes zum Knochen haben LPs im Vergleich zu externen Fixateuren eine viel höhere Steifigkeit^{3,4}. Sie minimieren oder verhindern die interfragmentäre Bewegung und tragen somit zu minderwertiger Kallusbildung und verzögerter und mangelhafter Frakturheilung bei. Weiterhin wurde beobachtet, dass die Kallusbildung hauptsächlich an der Trans-Kortex, also plattenfern und kaum an der Cis-Kortex stattfindet⁵. Non-Unions oder Refrakturen nach dem Entfernen der Implantate sind reale und gefürchtete Konsequenzen⁶.

1.2 Zielsetzung der Arbeit

In dieser Studie sollte mit einem etablierten Tibiaosteotomiemodell am Schaf gezeigt werden, ob und in welchem Masse die Knochenheilung von Frakturen langer Röhrenknochen durch ein verändertes Schraubendesign winkelstabiler Implantate beeinflusst werden kann. Die spezielle Form der Schrauben sollte die mechanische Dynamisierung an der Cis-Kortex bewirken und so die biologische Stimulation der Knochenbruchheilung verbessern. Folglich war weiterhin zu klären, ob unter diesen veränderten Bedingungen die Kallusbildung gleichmässig, d.h. auch an der plattennahen Kortex (Cis) stattfindet und so der Bruch effizienter durchbaut wird als unter konventionellen Plattensystemen. Radiologische (Röntgen, Computertomographie) und histomorphometrische Untersuchungen sollten die Quantität und Qualität des neu gebildeten Knochens darstellen. Durch mechanische Testungen der Tibiae sollten vergleichbare Informationen über Festigkeit und Belastbarkeit der geheilten Knochen gewonnen werden. Weiterhin war zu klären, ob durch das Verabreichen von

Fluoreszenzfarbstoffen zu verschiedenen Zeitpunkten eine Aussage über die Wirkung der veränderten interfragmentären Bewegung (IFB) auf die Knochenstoffwechselaktivität möglich sein könnte.

2 Literaturübersicht

2.1 Der Knochen als biomechanische Einheit

Als Baustein des Skelettsystems hat der Knochen eine wichtige Stütz- und Schutzfunktion. Er ermöglicht als Ansatz und Hebel des Muskelsystems die Bewegung und ist Teil des Calcium-Phosphorstoffwechsels und der Blutbildung⁷. Es lassen sich lange Röhrenknochen (*Ossa longa*), breite Knochen (*Ossa plana*), kurze Knochen (*Ossa breva*) und Sesambeine (*Ossa sesamoidea*) unterscheiden. Erstere werden in das Mittelstück (Diaphyse), die jeweiligen Endstücken (Epiphysis proximalis et distalis) und die dazwischen liegenden Metaphysen unterteilt. Die Diaphyse besteht aus der Markhöhle mit dem Knochenmark umschliessenden Substantia compacta. Die Epiphysen besitzen eine dünne Knochenrinde (Substantia corticalis) um die schwammartig zusammengesetzte Substantia spongiosa. Die bindegewebige Hülle des Knochens (Periosteum) ist aus einer fibrösen Schicht (Fibrosa) und der darunter liegenden zellreichen, osteogenen Schicht (Kambium) zusammengesetzt. Die Innenauskleidung (Endostium) ist ähnlich, nur etwas dünner und faseriger aufgebaut. Der Knochen ist als vitales und biologisch aktives Gewebe steten Umbauprozessen unterworfen^{8,9}. Nicht nur als Teil des Ca-P-Stoffwechsels findet hier ein ständiger Auf- und Abbau statt, auch wechselnde biomechanische Bedingungen führen laut dem Wolffschen Transformationsgesetz von 1892 zu einem funktionellem Umbau der inneren Trabekelstruktur. Der Anatom und Chirurg Julius D. Wolff (1835-1902) erkannte, dass sich “im Gefolge primärer Änderungen der Form und Inanspruchnahme oder auch bloss der Inanspruchnahme der Knochen, bestimmte, nach mathematischen Regeln eintretende Umwandlungen der inneren Architektur und ebenso bestimmte, denselben mathematischen Regeln folgende sekundäre Umwandlungen der äusseren Form der betreffenden Knochen vollziehen“⁹. Vereinfacht gesagt, wird stark beanspruchter Knochen stärker. Nicht oder wenig stark beanspruchter Knochen wird hingegen schwächer. Knochengewebe besteht im weitesten Sinne aus, über Zellfortsätze miteinander verbundenen, Osteozyten und der extrazellulären Matrix. Organische Materialien (v.a. fibrillenförmiges Kollagen Typ I, Osteonectin, Osteocalcin, Proteoglycane), Mineralkristalle (Calcium-Hydroxylapatit, Calcium-Phosphat-Komplex) und Wasser ordnen sich zu grösseren parallelen Fibrillenbündeln und diese wiederum zu ungeordneten (Geflechtknochen) oder geordneten (Lamellenknochen) Verbänden. Diese Matrix wird von knochenaufbauenden Osteozyten (Osteoblasten)

zylinderförmig um die sie versorgenden Blutgefäße und Nervenfasern angelegt. Diese sogenannten Osteone oder Haverschen Kanäle verlaufen annähernd parallel zur Hauptbelastungsrichtung. Zwischen den Osteonen befinden sich Spaltlamellen und Bindegewebe. Durch eine Veränderung der Belastungsverhältnisse werden Osteoklasten angeregt, nicht benötigtes Knochengewebe tunnelförmig abzubauen. So schaffen sie Platz für die neu produzierte Knochenmatrix der Osteoblasten. Dieser Prozess wird als Remodelling bezeichnet. Den Neubau von Knochenmaterial aufgrund einer Mehrbelastung nennt man Modelling. Durch seine Struktur ist der Knochen einerseits ein sehr festes, aber andererseits elastisch verformbares Gewebe. H. Frost vertiefte 1960 das Wolffsche Gesetz und stellte im Utah Paradigm of Skeletal Physiology den Mechanostat-Lehrsatz auf¹⁰. Dieser besagt u.a., dass Knochenwachstum und Knochenumbau durch die maximale elastische Verformung des Knochens bestimmt werden. Er teilt die elastische Knochenverformung in vier Bereiche ein. Bei Unterbelastung des Gewebes findet Knochenabbau statt. Unter physiologischen Verhältnissen wird der Knochen entsprechend der Richtung der Krafteinwirkungen umgebaut und repariert, Knochenmasse und –festigkeit bleiben erhalten. Bei Überbelastung findet bis zu einer gewissen Grenze Knochenaufbau statt, Masse und Festigkeit nehmen zu. Wird diese Grenze überschritten, bricht der Knochen (Fraktur).

2.2 Knochenheilung

2.2.1 Primäre Knochenheilung

Die primäre oder direkte Knochenheilung findet nur unter bestimmten Bedingungen und stets ohne Kallusbildung statt¹¹. Werden die Fragmente zeitnah nach der Fraktur eng und äusserst stabil aufeinander gepresst (Osteosynthese oder unvollständige Frakturen), regenerieren sich die verletzten Osteone und verzahnen sich mit denen der anderen Seite (Kontaktheilung). Gibt es einen kleinen Frakturspalt ($< 1\text{ mm}$), entsteht dort aus Fibroblasten und Kapillaren Granulationsgewebe, in welches Osteoblasten einwandern. Der primär gebildete Faserknochen wird kurz darauf zu lamellären Knochen umgebaut (Spaltheilung).

2.2.2 Sekundäre Knochenheilung

Die sekundäre Knochenheilung wird auch als Kallusheilung bezeichnet und ist die natürliche Reaktion des Körpers, Frakturenden zu stabilisieren¹¹. Durch die Verletzung infolge einer Fraktur entsteht vorerst ein *Frakturhämatom*. Mit dem Blut gelangen Entzündungszellen und Fibroblasten in den Frakturspalt. Durch das Auslösen einer Entzündungskaskade werden weitere Zellen angelockt und die Bildung neuer Blutgefässe sowie Fibrin- und Kollagenstrukturen angeregt. Dieses *Granulationsgewebe* überbrückt als so genannter weicher Kallus zuerst die Frakturenden. Osteoklasten bauen totes, unbrauchbares Gewebe ab während Osteoblasten vom Periost her beginnen, neuen Knochen zu bilden. Der Kallus wird durch die Einlagerung von Calcium ausgehärtet und ist vorerst noch ungeordneter *Geflechtknochen*. Schlussendlich wird dieser durch Modelling und Remodelling zu *Lamellenknochen* umgebaut und der Belastungssituation angepasst. Im Überschuss gebildetes Knochengewebe wird zurückgebildet.

2.2.3 Biomechanische Einflüsse

Neben den biologischen Faktoren wie z.B. der Blutversorgung sind die biomechanischen Bedingungen sehr wichtig für den Erfolg oder Misserfolg der Knochenheilung. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Bewegung im Frakturspalt (Interfragmentäre Bewegung, IFB) die sekundäre Knochenheilung beeinflusst¹². Die Grösse der IFB wird im Einzelnen durch den Zeitpunkt der Stimulation im Verlaufe des Heilungsvorganges^{13,14}, die Art und Richtung der einwirkenden Belastungen/Kräfte^{15,16}, die Grösse des Frakturspalt^{17,18} und nicht zuletzt durch die Stabilität der Fixation^{1,12,19,20} beeinflusst.

Durch die Instabilität einer Fraktur wird der Knochen auf zellulärerer und molekularer Ebene angeregt, schnell überbrückendes Gewebe zu bilden. Eingebettete Zellen werden durch die Gewebedehnungen und hydrostatische Drücke verformt und so aktiviert^{15,21,22}. Vorerst werden die Frakturenden über voluminösen, weichen Kallus temporär mechanisch stabilisiert. Zu dieser Zeit ist die Bewegung im Frakturspalt durch Belastung noch recht hoch und regt das Gewebe weiterhin an zu proliferieren und zu differenzieren. Vom Periost und Endost beginnend bis hin zur Frakturebene wird weicher Kallus in knöchernen umgebaut und von aussen nach innen mit dem der Gegenseite verbunden. Erst wenn genügend und ausreichend fester Kallus gebildet

wurde, die interfragmentäre Bewegung reduziert und so die Steifigkeit ausreichend erhöht werden konnte, beginnt die eigentliche Heilung der Kortizes. Hier sei zur Vollständigkeit der eigentliche Begriff der Dynamisierung zu klären. Unter der Dynamisierung von Frakturen versteht man im Allgemeinen das bewusste Zulassen von Bewegungen jeglicher Art und Grösse während der Heilungsphase^{1,2,13,23}. Viele Studien haben gezeigt, dass durch die Dynamisierung von Frakturen, z.B. durch das Verstellen der Steifigkeit eines Fixateur externe, die Knochenheilung forciert wird^{2,12,24}. Untersuchungen zum Einfluss der Bewegungsrichtung haben gezeigt, dass die axiale Bewegung einen positiven Effekt auf die Kallusbildung hat²⁵. Durch axiale Kompression bedingte IFB von 0,2 – 1,0 mm verbessert die Frakturheilung, indem sie zu mehr und gut mineralisierten Kallus führen¹⁴. Scher- und Zugkräfte hingegen scheinen eine ungünstige Wirkung zu haben²⁶. Es gibt jedoch Studien, die belegen, dass moderate Scherbewegungen zu einer erfolgreichen Frakturheilung führen können²⁷. Auch der zelluläre Toleranzbereich gegenüber Dehnung und Druck ist begrenzt^{15,22}. Augat et al. zeigten, dass zyklisch applizierte Dehnungen im Frakturspalt die Kallusformation zwar stimulieren, jedoch nicht zu einer weiteren Beschleunigung der Knochenheilung führen²⁸. Im Hinblick auf die einwirkenden Kräfte kann die Frakturheilung nach White et al. in vier Stufen eingeteilt werden²⁹. Wirkt ein maximales Drehmoment auf eine geheilte Fraktur der Stufe 1, versagt der Knochen im Frakturspalt aufgrund seiner niedrigen Steifigkeit. Er erfährt eine grosse Deformation. In Stufe 2 „bricht“ der Knochen ebenfalls in der Frakturzone, er ist jedoch steifer und wird weniger verformt. In Stufe 3 erfolgt der Bruch sowohl im Frakturspalt als auch, meist spiralförmig, im intakten Knochen. In Stufe 4 ist der geheilte Knochen annähernd so steif wie intakter Knochen, sodass der Bruch ausserhalb der Frakturzone erfolgt. Dafür ist eine weitaus höhere Kraft notwendig. Claes et al. stellten fest, dass mit steigender Grösse des Frakturspalt die Knochenheilung verzögert wird. Sie belegten, dass viel IFB auch viel Kallusformation bedingt. Dies gilt allerdings nur für kleine Frakturspaltgrössen (1 - 2 mm). Für grössere Frakturspalten (> 2 mm) gilt, dass sich zu hohe IFB negativ auf die Kallusbildung auswirken¹⁸. Reaktiv wird zwar viel Kallus gebildet, um den Querschnitt der Frakturbene zu vergrössern und so zu stabilisieren, allerdings passiert dies auf Kosten der Kallusmineralisierung. Der Kallus ist zu schwach und kann die Fraktur nicht stabilisieren. Dies kann zu einer hypertrophen Pseudarthrose führen. Im Gegensatz dazu konnten mehrere Studien zeigen, dass unter zu wenig interfragmentärer Bewegung die Kallusbildung unterdrückt und so die Heilung

verzögert wird. Es ist zudem möglich, dass durch die mechanische Unterbelastung des Gewebes Knochenmatrix abgebaut wird^{10,30}.

Fixationssysteme, die die Fraktur über Kompression stabilisieren, führen prinzipiell nicht zu IFB. Eine konservative Frakturversorgung durch Anbringen eines Gips- oder Kunstharzverbands ermöglicht je nach Belastung der jeweiligen Gliedmasse eine variable IFB. Marknagelosteosynthesen, Fixateur-externe-Systeme und elastische Plattenosteosynthesen bedingen ebenfalls, abhängig von der jeweiligen Steifigkeit des Systems, eine breite Spannweite an IFB^{20,31}. Lujan et al. belegten kürzlich, dass winkelstabile Implantate wenig und v.a. ungleiche IFB ermöglichen und so zu unbeständiger und asymmetrischer Kallusbildung führen⁵.

2.3 Die Entwicklung von winkelstabilen Plattenosteosynthesen

Mitte des 19. Jahrhunderts entwickelte sich neben der konservativen Knochenbruchbehandlung auch die Stabilisierung von Frakturen mittels Plattenosteosynthesen. In den nächsten Jahrzehnten festigte sich die allgemeine Lehrmeinung, dass die primäre Knochenbruchheilung ohne sichtbaren Kallus für zahlreiche Frakturformen erstrebenswert sei. Die Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen (AO) stellte 1969 vier Grundsätze zur Anwendung von Plattensystemen auf: anatomische Reposition, absolute Stabilität durch interfragmentäre Kompression, Erhaltung der Blutversorgung durch atraumatische Operationstechnik und Vermeidung von Immobilisationsschäden.

Die Entwicklung der Implantate reichte von intraoperativ eingesetzten Plattenspannern über dynamische Kompressionsplatten (DCP) bis hin zu Systemen, die trotz Kompression das Periost durch minimalen Platten-Knochenkontakt schonen und damit die Blutversorgung sichern sollen (LC-DCP). Nachteil dieser Systeme ist die enorme Manipulation und Irritation des Gewebes und die somit hohe Gefahr einer verspäteten oder ausbleibenden Heilung oder gar einer Infektion. Mehrere Autoren berichteten bereits in den 70er und 80er Jahren von Komplikationen wie Infektion und Stressfrakturen nach Plattenentfernung^{32,33}. Neue Erkenntnisse und klinische Langzeiterfahrungen über Knochenbiologie, Durchblutung und Frakturspaltbelastung führten zu der Beschränkung von rigiden Fixationssystemen, die eine primäre Knochenheilung forcieren, auf einige transversale oder kurze Schrägfrakturen und Frakturen mit Gelenkbeteiligung⁶. Es kam so zu der Entwicklung von Brückenplatten-

Osteosynthesen als winkelstabile Systeme⁶ (Schuhli-Nut³⁴, PC-Fix³⁵, Zespol³⁶, PHILOS³⁷, LISS³⁸), die im weitesten Sinne unter Locking Plates zusammengefasst werden können. Da sich die Funktionsweise der Locking Plates (LP) von Fixateur externe-Systemen ableitet, hat sich die Bezeichnung Fixateur interne entwickelt^{4,39}. Hier werden die auftretenden Kräfte nicht mittels Reibung durch engen Platten-Knochen-Kontakt, sondern durch die funktionell als Bolzen wirkenden, winkelstabilen Schrauben neutralisiert. Durch die winkelstabil verankerten Schrauben ist es somit möglich, ohne Knochen-Platten-Kontakt eine Fraktur zu überbrücken und elastisch zu fixieren. Die Kraft wird gleichmässig über alle Schrauben abgeleitet. Es gibt keine Kraftkonzentration auf einzelne Knochen-Schrauben-Verbindungen. Die Stabilität ist nicht mehr von der Knochenqualität und der Grösse und Lage einzelner Frakturteile abhängig. Die winkelstabilen Implantate eröffneten neue Einsatzmöglichkeiten auf den Gebieten der Versorgung von Frakturen mit osteoporotisch verändertem Knochen und Trümmerfrakturen. Zeitgleich erfolgte die Entwicklung einer kombinierten Platte, die dem Chirurgen durch ein spezielles Gewindeloch-Design die Wahl zwischen Kompression und Winkelstabilität gibt (Locking Compression Plate, LCP)^{40,41}. Allerdings ist der gleichzeitige Einsatz beider Verfahren zur Versorgung einer einzelnen Fraktur aus biomechanischen Gründen umstritten.

Abgesehen von den Materialeigenschaften an sich, ist die Steifigkeit von winkelstabilen Implantaten auch vom Platten-Knochen-Abstand abhängig. Je weiter die Platte vom Knochen entfernt ist, desto flexibler ist das System. So haben LPs im Vergleich zu Fixateur externe-Systemen eine weitaus höhere Rigidität^{42,43}. Sie erlauben nur eine begrenzte IFB, was zu verzögerter Heilung durch unzureichende Kallusbildung führen kann^{6,42,44}. Zudem verursachen LP-Implantate zusätzlich eine asymmetrische IFB, was ergänzend zu einer asymmetrischen Kallusverteilung führt⁵. Sie können sogar so steif wie konventionelle Plattensysteme sein, die so konstruiert sind, primäre Knochenheilung zu gewährleisten⁶. Erste Studien belegen, dass ungenügende Kallusformation mit verzögerter oder ausbleibender Heilung durchaus realistische Folgen von zu steifen LP-Konstrukten sein können^{45,46}. Das LP-System läuft Gefahr zu einem „nonunion-generator“ zu werden⁶. Die Notwendigkeit der Beeinflussung der Steifigkeit wurde schon vor mehreren Jahren bemerkt⁴⁷. Bisher bleibt dem Chirurgen nur die intraoperative, subjektive Entscheidung innerhalb einer engen Spannweite von mehr oder weniger Steifigkeit, indem er handelsübliche Implantate von Fall zu Fall variiert. Er hat die Möglichkeit, die Plattenlänge, die Anzahl und Position der

Schrauben und die Art der Schrauben (gewindelose oder Verriegelungsschrauben, bicortical oder monocortical Schrauben) zu verändern^{48,49}. Oft sind anatomische Verhältnisse oder eine unzureichende Knochenqualität (Osteoporose) limitierende Faktoren. Anders als externe Fixateure sind LP-Systeme sehr schwierig zu dynamisieren^{6,42}. Die Reduktion der Steifigkeit von LP-Systemen geht bisher immer auf Kosten der Konstruktstärke. So resultiert zwar die Aussparung von mindestens 2 Schraubenplätzen über dem Frakturspalt in einer Verminderung der Steifigkeit um 50%⁴⁸ aber auch in der Notwendigkeit einer längeren Platte, um die benötigte Stärke zu gewährleisten^{48,50}. Weitere Lösungsansätze sind die Verringerung der Plattendicke, die Vergrößerung des Plattenabstandes und die Erhöhung der Spannweite^{48,51-53}. Ergänzend wurden Implantate aus verschiedenen Kunststoffen, biodegradierbaren Materialien oder alternativen Metallen getestet. Auch diese Wege verschulden eine herabgesetzte Konstrukt-Stabilität und erhöhen die Gefahr eines Implantatversagens mit nur unbefriedigenden Ergebnissen. Zum Beispiel belegten Lujan et al. erst kürzlich wieder, dass eine grössere Spannweite die Kallusbildung nur geringgradig forciert⁵. Ebenso wurde der biomechanische Einfluss der Position der Platte am Knochen diskutiert. Allerdings ist diese Möglichkeit nur theoretisch, nicht aber klinisch relevant⁵⁴.

2.3.1 Aktuelle Tendenzen

Die Entwicklung geht zu flexiblen, aber dennoch stabilen Platten-Schrauben-Konstrukten, die eine gleichmässige interfragmentäre Bewegung gewährleisten und so einen gleichmässig stabilen Kallus induzieren könnten. Bottlang et al. entwickelten eine Schraube, die es ermöglicht, bei erhaltender Stärke die Steifigkeit des Konstruktes zu verringern⁵⁵. Durch die Aussparung des Schraubengewindes am oberen Schraubenschaft wurde ein Bewegungsfreiraum an der plattennahen Kortex und so annähernd parallele interfragmentäre Bewegung ermöglicht. Sie testeten die Konstrukte an normalen und osteoporotischen Ersatzknochen und kamen zu dem Ergebnis, dass konventionelle LP-Systeme signifikant steifer waren als die so genannten Far Cortical Locking-Konstrukte (FCL). In Bezug auf die Torsions- und Biegebelastung waren jedoch die FCL-Konstrukte für beide Knochenqualitäten sogar signifikant stärker. Gardner et al. realisierten im gleichen Jahr ein ähnliches Konzept⁵⁶. Anstatt die Schraube im Loch zu verdünnen, vergrösserten sie das Loch um die Schraube in der Cis-Kortex. Hier konnten signifikant geringere Steifigkeiten für axiale und

Torsionsbelastungen und dennoch keine Komplikationen oder Ausfälle nach zyklischer Belastung nachgewiesen werden. Leider fehlten bei dieser Studie Aussagen über die Konstruktstärke und über die mögliche Bewegung im Frakturspalt. Döbele et al. stellten ebenfalls 2009 eine dynamische Schraube vor, welche die axiale Steifigkeit vermindert und dadurch die IFB auf der der Platte zugewandten Seite steigert⁵⁷. Die letztgenannten Arbeitsgruppen nannten keine Ergebnisse zu Untersuchungen am osteoporotischen Knochenphantom.

3 Material und Methoden

3.1 Implantatdesign

In der vorliegenden Untersuchung kamen spezielle Schrauben-Platten-Kombinationen (Locking Plate (LP) und Far Cortical Locking (FCL)) aus einer chirurgischen Titanium-Legierung (Ti-6Al-4V) zum Einsatz. Diese wurden eigens für diese Studie in einem auf orthopädische Implantate spezialisiertem Unternehmen (Thortex, Portland, Oregon, USA) hergestellt. Die Konstrukte wurden so gestaltet, dass sie mit handelsüblichen 4,5 mm Osteosyntheseplatten und Schrauben vergleichbar waren, aber bereits die natürliche Krümmung der Schafstibia berücksichtigten. Die Platten waren 117 mm lang, 17 mm breit, 5,6 mm stark und wiesen eine longitudinale Krümmung (Radius = 750 mm) auf. In die Platten wurden jeweils 6 Gewindelöcher in abwechselnd versetzter Position eingebracht. Durch die Krümmung der Platte ergab sich so ein Ausrichtungswinkel ab der Mittellinie von jeweils 9° (siehe Abb. 1c). Die selbstschneidenden Kopfverriegelungsschrauben hatten ein 4,5 mm starkes kortikales Gewinde. Die Konstrukte unterschieden sich im Design der Schrauben. Die FCL-Schrauben hatten einen gewindelosen Schaft im Bereich der Cis-Kortex mit einem Durchmesser von 3,0 mm (FCL1) bzw. 3,5 mm (FCL2) und konnten so nur unikortikal an der Trans-Kortex verankert werden. Dadurch ergab sich ein kontrollierter Bewegungsfreiraum (Δd) des Schaftes, sodass die FCL-Schrauben im Sinne eines elastischen Elementes eingesetzt werden konnten (Abb. 1.a und b). Durch dieses Design ergab sich unter axialer Belastung eine fast parallele interfragmentäre Bewegung (Abb. 2)⁵⁵. Zusätzlich waren in den Platten jeweils zwei 2,8 mm Löcher für unikortikale Fixierungsschrauben vorgesehen. Diese Schrauben wurden nach beendeter Implantation wieder entfernt.

Abb. 1:

Schrauben und Implantatdesign:

a: Graphische Darstellung des Designs und der Lage der Schrauben im Bezug auf die Platte bzw. den Knochen; Δd stellt den kontrollierten Bewegungsfreiraum dar.

b: Graphische Darstellung der als elastisches Element fungierenden Bereiche (schwarz) der FCL-Schrauben im Vergleich zu den Bereichen eines Fixateur extern-Pins.

c: Graphische Darstellung der von der Mittellinie abweichenden Ausrichtungswinkel der Schrauben; bedingt durch die vorgegebene Krümmung der Platte.

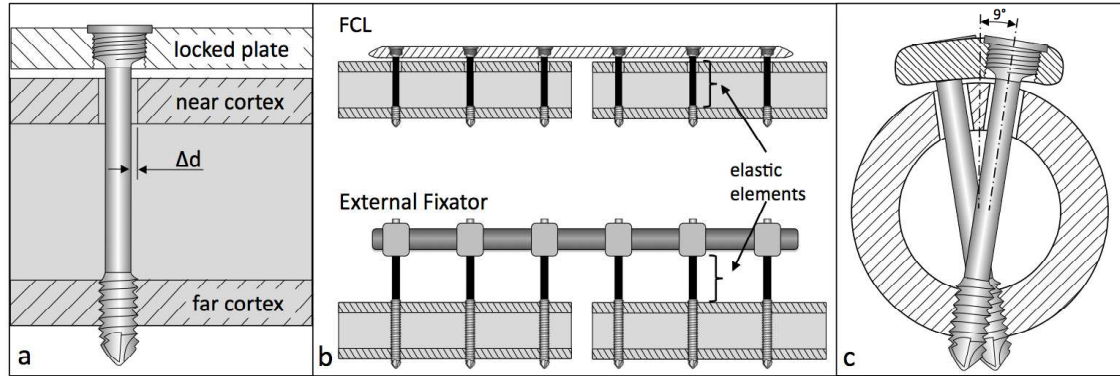


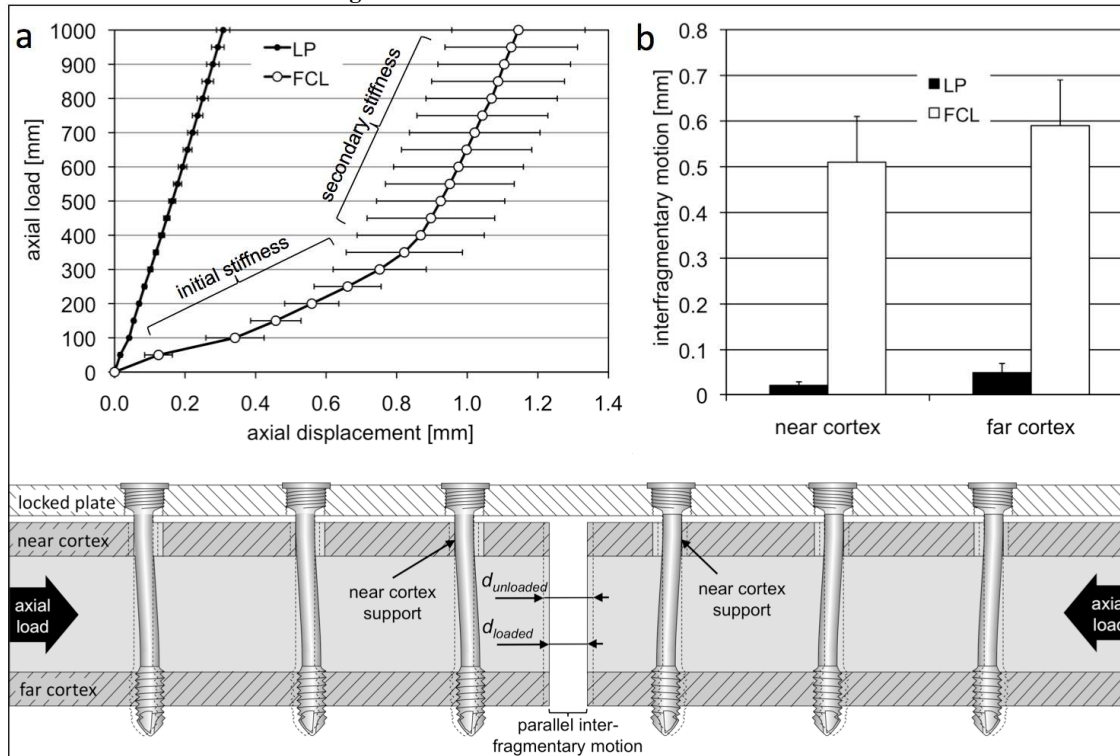
Abb. 2:

Interfragmentäre Bewegung unter axialer Belastung:

a: Graphische Darstellung der axialen Verformung in Relation zu der steigenden axialen Belastung; steile, lineare Kurve der LP-Gruppe; biphasische Kurve der FCL-Gruppe.

b: Graphische Darstellung der interfragmentären Bewegung an der Cis (near)- und Trans (far)-Kortex.

c: Graphische Darstellung der interfragmentären Bewegung durch die elastische Verformung der FCL-Schrauben unter axialer Belastung.



Die Abbildungen wurden freundlicherweise von M.Bottlang, Legacy Biomechanics Laboratory, Portland,OR, USA zur Verfügung gestellt.

3.2 Aufbau der Studie

Dieser Tierversuch wurde vom kantonalen Veterinäramt mit der Bewilligungsnummer 141/2008 genehmigt. Es wurden 19 weibliche, weisse Alpenschafe und schwarzbraune Bergschafe, im Mittel 30,68 Monate alt (24 – 57 Monate), mit einem durchschnittlichen Gewicht von 64,11 kg (51 – 81 kg) in 3 Gruppen eingeteilt (Tab. 12). Die rechte Tibia wurde bei allen Tieren etwa in der Mitte der Diaphyse transversal osteotomiert. So entstand ein 3 mm grosser Spalt, welcher in allen Gruppen mit einer 6-Loch-Locking Plate fixiert wurde. Zur Verankerung wurden in der LP-Gruppe selbstschneidende, bikortikale Verriegelungsschrauben verwendet. In den FCL-Gruppen kamen die neuen, unikortikalen Verriegelungsschrauben mit zwei verschiedenen Durchmessern zur Anwendung. Der Zeitraum von der Operation bis zur Tötung der Tiere betrug 9 Wochen.

3.3 Versuchstiere

Die Versuchstiere stammen aus einer eigens dafür gehaltenen Schafherde, die sich sowohl aus selbst gezogenen als auch aus angekauften Tieren zusammensetzt. Das allgemeine Herdenmanagement beinhaltet die Schur aller Schafe zweimal jährlich, die antiparasitäre Behandlung mit alternierenden Wirkstoffen viermal im Jahr Moxidectin (Cydectin[®] 0,1% orale Lösung, 0,2 mg/kg KGW, Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen, Deutschland), Netobimin (Hapadex[®] 5%, 20 mg/kg KGW, Berna Veterinärprodukte AG, Bern, Schweiz) sowie die Überwachung des Gesundheitsstatus und die Pflege der Klauen im Abstand von sechs Wochen. Weiterhin erfolgen Impfungen sowohl gegen tierartspezifische Clostridien- und Pasteurelleninfektionen (Ovilis[®] Heptavac P ad. us. vet, 2 ml s.c., Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) als auch gegen die Erreger der Moderhinke (Footvax[®] ad.us.vet., Essex Tierarznei, 1 ml s.c., Schering-Plough Animal Health Limited, New Zealand). Diese bestehen jeweils aus einer zeitlich versetzten Grundimmunisierung (zwei Injektionen im Abstand von 4 bis 6 Wochen) gefolgt von jährlichen Wiederholungsimpfungen.

Beim Ankauf neuer Tiere werden diese einer allgemeinen klinischen Untersuchung und einer speziellen transrektalen bzw. transabdominalen Ultraschalluntersuchung zum Ausschluss einer eventuellen Trächtigkeit unterzogen. Wie tierseuchenrechtlich vorgeschrieben erfolgt zudem ein serologischer Nachweis von Maedi/Visna-

Antikörpern im Blut (Serum) der Schafe durch das Virologische Institut der Vetsuisse-Fakultät Bern. Als positiv befundene Tiere werden nicht in die Versuchsherde aufgenommen, der zuständigen Behörde gemeldet und zeitnah zur Schlachtung transportiert. Ebenso werden keine trächtigen, kachektischen oder verletzten Tiere oder Tiere, die durch reduziertes Allgemeinbefinden oder ansteckende Krankheiten auffällig geworden sind, zugekauft. Gesunde und somit angekaufte Tiere werden 2mal im Abstand von 14 Tagen mit Moxidectin (Cydectin® 0,1% orale Lösung, 0,2 mg/kg KGW, Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen, Deutschland) gegen Endo- und Ektoparasiten behandelt, einer gründlichen Klauenpflege unterzogen und schliesslich mit einer bestandseigenen Ohrmarke gekennzeichnet. Um eine eventuell als falsch negativ diagnostizierte Trächtigkeit im Frühstadium abzubrechen, werden die Schafe einmalig mit dem luteolytisch wirkenden Hormon Prostaglandin F₂alpha/Dinoprost (Dinolitic® ad. us. vet.. Injektionslösung, 0,01 mg /kg KGW s.c., Pfizer AG, Zürich, Schweiz) behandelt. Ebenso erhalten diese Schafe zeitlich versetzte Grundimmunisierungen (siehe oben) gegen Clostridien- und Pasteurelleninfektionen sowie die Moderhinke und werden so dem allgemeinen Impfreime des Bestandes angepasst.

3.4 Operation

3.4.1 Vorbereitung und Anästhesie

Etwa eine Woche vor dem geplanten Operationstermin wurden die Schafe zur Akklimatisierung in den für den Zeitraum nach der Operation vorgesehen Stall verbracht. Um sicherzugehen, dass die Tiere gesund und somit für eine Operation/Narkose geeignet waren, wurden sie 3-4 Tage vor dem Eingriff einer allgemeinen klinischen Untersuchung unterzogen. Den Schafen wurde mittels eines Vacutainer-Systems (Bellivier Industrial Estate, Plymouth, Grossbritannien) venöses Blut aus der Vena jugularis entnommen und ein hämatologisches (aus EDTA-Blut) sowie ein chemisches (aus Serum) Blutbild erstellt. Zeitgleich erfolgten das Wiegen der Tiere und das Scheren des rechten Hinterbeines inklusive des angrenzenden Kniefalten- und Unterbauchbereiches sowie der linken Halsseite im Bereich der Jugularvene. Ab 24 Stunden vor Beginn des Eingriffes wurden die Schafe bei Wasser ad libitum gefastet. Nach einer ausführlichen präanästhetischen Untersuchung erfolgte die sedativ-analgetische Prämedikation 30 Minuten vor der Narkoseeinleitung durch eine

intramuskuläre Injektion von Xylazin (Xylazin Streuli ad us. vet.[®], 0,1 mg/kg KGW, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) und Buprenorphin (Temgesic[®], 0,01 mg/kg KGW, Essex Chemie AG, Lyssach, Schweiz). Der Bereich der linken Jugularvene wurde durch das Waschen mit einer Seife (Hibiscrub[®], SSL Healthcare Schweiz AG, Reinach, Schweiz), das Entfetten mit Alkohol (Ethanol ketoniert 80% V/V KA, Kantonsapotheke Zürich, Schweiz) und der Desinfektion mit Chlorhexidin (Hibitane[®] Tinktur, SSL Healthcare Schweiz AG, Reinach, Schweiz) vorbereitet, sodass anschliessend ein Venenverweilkatheter (BD Angiocath[™], 2.1 x 83 mm, Becton Dickinson Infusion Therapy Systems Inc., Utah, USA) lege artis in die Vena jugularis gelegt und mit einem Faden (Supramid[®] DS30, met. 3,5, Aesculap AG & CO.KG, Tuttlingen, Deutschland) an der Haut fixiert werden konnte. Durch diesen Katheter erhielten die Tiere zur peri- und postoperativen Infektionsprophylaxe eine Antibiose aus Benzylpenicillin (Penicillin Natrium Streuli ad. us. vet., 35000 I.U./kg KGW, G.Streuli&co. AG, Uznach, Schweiz) und Gentamicin (Vetagent[®], 4 mg/kg KGW, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) sowie zur Schmerz- und Entzündungsbehandlung das nichtsteroidale Antiphlogistikum Carprofen (Rimadyl[®], 4 mg/kg KGW, Pfizer AG, Zürich, Schweiz). Ebenso wurde ihnen 3000IE/kg KGW Tetanusserum (Tetanus-Serum Intervet[®], 3000 I.U., Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) s.c. injiziert. Die Narkose wurde durch die intravenöse Injektion von Ketaminhydrochlorid (Narketan[®] 10, 4-6 mg/kg KGW i.v., Vétoquinol AG, Ittingen, Schweiz), Diazepam (Valium[®] Ampullen 10 mg, 0,1 mg/kg KGW i.v., Roche Pharma AG, Reinach, Schweiz) und Propofol (Propofol[®] 1% MCT Fresenius, 0,1-0,3 mg/kg KGW i.v., Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) eingeleitet. Nach der lokalen Anästhesie des Kehlkopfbereiches mit Lidocain (Xylocain Spray 10%, Astra Zeneca AG, Zug, Schweiz) erfolgten die endotracheale Intubation und die Aufrechterhaltung der Anästhesie mit 1-1,5% Isofluran-Sauerstoff-Inhalation (Isoflo[®], Abbott AG, Baar, Schweiz). Überwacht wurde die Narkose mittels EKG, Kapnographie und Blutdruckmessung. Zur Unterstützung der Vitalfunktionen erhielten die Tiere während der Operation Ringer-Laktat-Lösung (Ringerlactat, 10 ml/kg KGW/h, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) per infusionem. Zum Schutz der Hornhaut vor Austrocknung wurde eine Vitamin-A-haltige Augensalbe (Vitamin A Blache, Bausch & Lomb Swiss AG, Steinhausen, Schweiz) in die Bindehautsäcke eingebracht. Die Tiere wurden in rechter Seitenlage gelagert.

Das Operationsfeld wurde nochmals rasiert, mit einer Seife (Hibiscrub[®], SSL Healthcare Schweiz AG, Reinach, Schweiz) gewaschen, mit 90% Ethanol entfettet und

schliesslich mit Chlorhexidin (Hibitane® Tinktur, SSL Healthcare Schweiz AG, Reinach, Schweiz) desinfiziert. Die umliegenden, nicht sterilen Bereiche wurden mit sterilen Tüchern abgedeckt.

3.4.2 Chirurgicaler Eingriff

Der chirurgische Zugang zur Tibiadiaphyse erfolgte mittels Skalpell von medial über einen ca. 15 cm langen Hautschnitt. Zur weiteren Präparation und Stillung auftretender Blutungen wurde ein Elektroauter verwendet. Nach Durchtrennung der oberflächlichen und tiefen Faszie konnte der Knochen mit Periost dargestellt werden. Daraufhin wurde die exakte Lokalisation der Schrauben mit Hilfe einer Bohrführungsplatte (Abb. 9) festgelegt. Dazu wurden proximal und distal des vorgesehenen Defekts zwei 2,8 mm unikortikale Löcher gebohrt und die Platte mit 3,5 mm selbstschneidenden Schrauben fixiert. Alle Bohr- und Sägevorgänge fanden unter ständiger Irrigation mit steriler 0,9%iger Kochsalzlösung (NaCl 0,9% Fresenius Spüllösung, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) statt. Um die Platte akkurat am Knochen zu justieren und gleichzeitig den ca. 1-1,5 mm grossen Abstand zum Knochen zu wahren, kamen vorübergehend vier Gummiringe und vier verstellbare Spikes zum Einsatz. Durch eingeschraubte Bohrhülsen wurden nun die Löcher 1, 6, 3 und 4 mit einem 3,7 mm Bohrer bikortikal gebohrt und deren Position zur Platte jeweils sofort durch Metallstifte gesichert. Um den Abstand von Knochen und Platte zu gewährleisten und gleichzeitig den Abstand zu messen, wurden kleine Gummiplättchen (1 mm oder 0,5 mm stark) verwendet. Nach dem Entfernen der Bohrführungsplatte wurde eine Schnittlehre durch Schrauben an Position 4 und 6 befestigt. Das Weichteilgewebe im Bereich des Defektes wurde mit zwei Hohmannhebeln geschützt und das Periost mit dem Elektroauter an entsprechender Stelle durchtrennt. Dann erfolgte die transversale Osteotomie mit einer oszillierenden Säge (Synthes®, Kat Modell 518.010, Sägeblatt Modell 70/49 x 14 x 0,6/0,4 mm). Danach wurde die Schnittlehre entfernt und eventuell entstandene Überstände an der Trans-Kortex, Knochensplitter sowie freie Periostfasern beseitigt. Nun erfolgte das Anbringen der eigentlichen Platte. Zunächst wurde deren Lage durch die zuvor verwendeten Metallstifte an den Positionen 1, 6, 3 und 4 gesichert. Um den 3-mm-Abstand zwischen den Frakturenenden zu gewährleisten, wurde ein Aluminiumplatzhalter verwendet. Der zuvor gemessene Zwischenraum zwischen Knochen und Platte wurde mit den vier Gummiringen und Gummiplättchen

sichergestellt. Die Knochenenden wurden dann mit den zwei 3,5 mm unikortikalen Verriegelungsschrauben an die Platte gezogen und so fixiert. Dann wurde das Loch an Position 2 gebohrt und die entsprechende Schraube locker eingeschraubt. Durch das Einbringen der Schrauben 1 und 3 und das Festziehen der Schrauben 1-3 konnte dann die Platte proximal des Defektes befestigt werden. Ebenso wurde die Platte distal durch Bohren und Einsetzen der Schraube an Position 5, Einschrauben der Schrauben 4 und 6 und letztlich durch das Festziehen der Schrauben 4 bis 6 fixiert. Vor dem Einsetzen der FCL-Schrauben wurden die Bohrlöcher mit bikortikalen Schrauben vorgeschraubt, die Trans-Kortex wurde dabei allerdings nur angebohrt. Nach dem vollständigen Anbringen des Implantates wurden die Gummiringe und Gummiplättchen entfernt (Abb. 10).

Der Verschluss der Operationswunde erfolgte durch fortlaufende Nähte der Faszien und der Subkutis mit resorbierbaren Nahtmaterial (Polyglactin, 2-0 Vicryl[®], Johnson & Johnson Int., Brüssel, Belgien). Anschliessend wurde die Haut mit Klammern (Auto Suture Appose ULC[®], United States Surgical, Norwalk, USA) geheftet und mit einer sterilen Kompresse (Mesorb[®], Mölnlycke Health Care AB, Göteborg, Schweden) abgedeckt. Zur Kontrolle der Implantatposition wurden Röntgenbilder (mobiles Röntgengerät, Diagnostic xray unit, Model orange 8016 HF, AC 220 V, 62 kV, 2,5 mAs, raymed medical x-ray, Düringen, Schweiz) im Winkel von 270° (mediolateral) und 180° (posterior/anterior) angefertigt. Die operierte Gliedmasse wurde inklusive der Klaue und des Kniegelenkes mit unbeschichteter Watte (FLAWA[®] Pressrollwatte, FLAWA AG, Flawil, Schweiz) gepolstert und diese mit einer elastischen Binde (Elastomull[®]Haft, BSN medical GmbH & Co., Hamburg, Deutschland) fixiert. Nach einer Schicht aus Papierkreppbinden (Cello-Crépe[®], IVF Hartmann AG, Neuhausen, Schweiz) folgte ein mehrlagiger Castverband (Scotch Cast[®]Plus, 7,6 cm, Laboratoires 3M Santé, Frankreich) zur Immobilisierung der Extremität. Abschliessend wurde eine Pflasterbinde (Isoelast[®], IVF Hartmann AG, Neuhausen, Schweiz) angebracht und der untere Bereich des Verbandes durch wasserabweisendes Klebeband (Tesa[®], AG, Bergdietikon, Schweiz) geschützt.

3.4.3 Postoperatives Management

Nach dem Ausleiten der Narkose und der Extubation wurden die Tiere in einem, von unserer Arbeitsgruppe entwickelten, netzartigen Aufhängesystem in Einzelboxen verbracht und bis zur vollständigen Erholung überwacht (Abb. 11). Die antibiotische

und antiphlogistische Therapie wurde weitere vier Tage über den Venenverweilkatheter fortgesetzt. Zur Schmerzbehandlung post operationem erhielten die Schafe noch zweimal im Abstand von 4 Stunden Buprenorphin i.m.. In den folgenden 9 Wochen wurde zweimal täglich der Gesundheitsstatus der Tiere durch eine kurze allgemeine Untersuchung, der Castverband im Hinblick auf Bruch- oder Druckstellen sowie bis zur 3. Woche der Sitz der Aufhängevorrichtung kontrolliert. Die Fütterung der Schafe erfolgte mit Heu und Wasser ad libitum. Sie hatten stets Sichtkontakt und später auch direkten Kontakt zu Artgenossen. Ab der dritten Woche post operationem wurden die Tiere aus dem Netz genommen und in grösseren Boxen in 2er Gruppen aufgestellt. Ab diesem Zeitpunkt wurde wöchentlich der Verband gewechselt und mit dem genannten mobilen Röntgengerät Röntgenbilder in den Ebenen 0°, 275° und 265° am sitzenden Schaf angefertigt (Abb. 12). Beim ersten Verbandswechsel konnten die Wundklammern entfernt werden. In der 4. und 7. Woche post operationem wurde den Tieren Fluoreszenzfarbstoffe (eigene Herstellung, Tierspital Zürich) (Woche 4: Calcein-Grün (10 mg/kg KGW), Woche 7: Xylenol-Orange (90 mg/kg KGW)) s.c. injiziert.

3.5 Probengewinnung und –aufbereitung

Die Schafe wurden 9 Wochen post operationem geschlachtet, d.h. durch einen Bolzenschuss betäubt und durch Blutentzug getötet. Die operierte Tibia wurde ausgelöst und freipräpariert. Anschliessend wurden mit einer Digitalkamera (Sony Cyber-shot DSC-R1, Sony Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland) makroskopische Aufnahmen des Knochens inklusive der Platte angefertigt (Übersichts- und Detailaufnahmen von medial, anterior, lateral und posterior). Weiterhin wurden Makroradiographien mit einem Faxitron (Cabinet x-ray-faxitron series, model 43855A, 55kV, 5 sec, Hewlett Packard, Mc Miniville Division, Oregon, USA) in den bekannten Winkeln 0°, 275° und 265° erstellt. Die Tibiae wurden bei -18°C tiefgefroren und zusammen zur mechanischen Testung nach Murnau (Biomechanisches Institut, Prof. P. Augat, Unfallklinik Murnau, Murnau am Staffelsee, Deutschland) verbracht.

Die Knochen wurden bei 4°C langsam aufgetaut und im Laufe der folgenden Tests stets mit 0,9% NaCl-Lösung getränkten Gazetupfern feucht gehalten. Nach dem Entfernen der Schrauben und Platten wurden ebenfalls Fotografien aller Ansichten angefertigt (Abb. 17). Anschliessend konnten CT-Aufnahmen (Multislice-Computertomograph. 64 Zeiler, GE "Lightspeed VCT", GE Healthcare, Chalfont St. Giles, United Kingdom) der

einzelnen Knochen inkl. verschiedener Dichtephantome erstellt werden (Abb. 13).

Die Knochen wurden bis auf einen Bereich von jeweils 4 cm proximal und distal des Frakturspaltes von sämtlichem Weichteilgewebe (Muskulatur, Sehnen, Faszien, Nervenstränge, Blutgefässe und Bindegewebe) befreit und mit einer Knochensäge auf 21 cm gekürzt, sodass der Spalt und der umgebende Kallus etwa im Zentrum lokalisiert waren. Die Enden des Knochens wurden mit einem Tuch getrocknet und sowohl die mediale und als auch die anteriore Seite mit einem wasserfesten Stift markiert. Dann wurde die Senkrechte des Knochens ausgemessen und ebenfalls markiert, um einerseits den optimalen Sitz der Löcher für die Halteschrauben am jeweiligen Scheitelpunkt der Knochenenden zu gewährleisten und andererseits die korrekte Position des Knochens in der Haltevorrichtung sicherzustellen. Es wurden anschliessend 3 cm tiefe Löcher mit einem 10,2 mm Bohrer senkrecht in das distale bzw. proximale Ende des Knochens gebohrt. Nach Montage der Haltevorrichtung wurde diese an den späteren Kontaktstellen der Einbettformen mit dem Befestigungsmedium mit Werkzeugöl eingesprüht. Dadurch konnte ein leichtes Lösen nach dem Aushärten sichergestellt werden. Der Knochen wurde daraufhin in der Haltevorrichtung senkrecht positioniert und durch die grossen Schrauben an den Enden fixiert. Pro Seite gaben zwei kleine Schrauben im rechten Winkel zum Knochen der Konstruktion weiteren Halt. Nun wurde das Befestigungsmedium PMMA (PolyMethylMethAcrylat, Technovit® 3040, Heraeus Kulzer, Deutschland) aus seinen Einzelbestandteilen (40 g Pulver, 18 g Flüssigkeit) in einem Plastikbecher angemischt und bei geeigneter, zähflüssiger Konsistenz in die erste Form gegossen. Die Zeit bis zum vollständigen Aushärten betrug etwa 35 Minuten. Dann konnte die Gegenseite in gleichen Schritten mit Technovit® eingebettet werden.

Die Messung der Werte zur Berechnung der Biegesteifigkeit erfolgte an einer elektro-mechanischen Materialprüfmaschine (Zwick Z010, Zwick, Ulm, Deutschland) mittels Durchführung einer so genannten Vier-Punkt-Biegung (Abb. 14). Dazu wurde der Knochen waagrecht auf die Vorrichtung mit der zu messenden Seite (A = anterior, L = lateral, P = posterior oder M = medial) nach unten platziert (2 Kontaktpunkte). Es musste sichergestellt werden, dass die Enden guten Kontakt zur Auflagefläche hatten. Gegebenenfalls wurden störende Kanten des PMMA mit Schleifpapier entfernt. Nun wurde der Knochen von oben unter weiteren 2 Kontaktpunkten mit einer Vorlast von 5 N (0,1 Nm) belastet. Um den möglichst gleichzeitigen Kontakt der oberen Punkte zu gewährleisten, konnte das Niveau der Knochenenden noch mit verschiedenen dicken

Aluminiumblöcken angepasst werden. Dann erfolgten 3 Messzyklen mit einer Belastung von 150 N (3 Nm) und einer Belastungsrate von 2 mm/min, wobei nur der 3. Zyklus ausgewertet wurde. Dies wurde für jede der 4 Ebenen durchgeführt. Die Ebene A wurde zudem ein zweites Mal getestet, um sicherzustellen, dass die Messung reproduzierbar war. Die gemessenen Werte wurden in einer Excel-Tabelle abgespeichert.

Die Werte zur Berechnung der Torsionssteifigkeit wurden mittels einer biaxialen, servohydraulischen Prüfmaschine (Instron 8874, High Wycombe, UK) gemessen (Abb. 15). Dazu wurde der Knochen an seinen Enden wieder in speziellen Aluminiumformen befestigt, die ihrerseits eine feste Verankerung in der Apparatur ermöglichten. Mit einer axialen Vorbelastung von 20 N wurde der Knochen mit 10 Grad/min bis zum totalen Versagen (Brechen) in der Längsachse rotiert. Auch diese gemessenen Werte wurden in einer Excel-Tabelle festgehalten. Anschliessend wurden die entstandenen Bruchmuster den bereits aufgeführten Frakturheilungsstufen nach White et al.²⁹ zugeordnet und Fotos zur Dokumentation angefertigt (Abb. 16).

Nachdem die Knochen mit einer Handsäge an beiden Enden auf eine Länge von ca. 5 cm gekürzt wurden, konnten sie zur Vorbereitung der Histologie in beschriftete Gläser mit 40% Ethanol (Ethanol KA, Kantonsapotheke Zürich, Schweiz) verbracht werden. Zur Entwässerung folgte dann eine aufsteigende Alkoholreihe:

- 7 Tage in 40% Ethanol
- 3 x 24 Stunden in 50% Ethanol
- 2 x 24 Stunden in 70 % Ethanol
- 1 x 24 Stunden in 90 % Ethanol
- 1 x 24 Stunden in 100% Ethanol

Zum Entfetten wurden die Proben für einen und drei Tage unter Vakuum in Xylol (Xylol KA, Kantonsapotheke Zürich, Schweiz) eingelegt. Das Vakuum ermöglichte ein besseres Durchtränken des Materials. Darauf erfolgte eine einwöchige Infiltration bei 4°C in vorerst flüssigem MMA (Methylmethacrylat), welches aus folgenden Komponenten angemischt und für 15 Minuten mit einem Magnetrührer homogenisiert wurde: Methacrylsäure-methylester (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz), Dibuthylphthalat (Merck-Schuchardt® OHG, Hohenbrunn, Deutschland) und Perkadox 16 (Dr. Grogg Chemie AG, Stetten, Schweiz) im Verhältnis 89,5 : 10 : 0,5. Die

Kennzeichnung der Proben erfolgte über einen mit Bleistift beschriebenen Papierstreifen im Glas mit der projektbezogenen Schafnummer und einer zugehörigen Histologienummer. Die Proben wurden dann wie folgt eingebettet: Die Polymerisation des MMAs fand über einen Zeitraum von einer weiteren Woche bei 4°C im Kühlschrank und anschliessend in einem unbeheizten Wasserbad statt. Danach wurden die Proben zum endgültigen Aushärten für zwei Tage in einem Wärmeschrank bei 37,5°C gelagert. Die Gläser wurden nun für ca. 30 min in einen Tiefkühler (-18°C) verbracht, sodass anschliessend das Glas leicht mit einem Hammer von den harten PMMA-Blöcken entfernt werden konnte. Die Blöcke wurden mit der projekteigenen Schafnummer und einer zugehörigen Histologienummer beschriftet. Die Schnittebene zur Herstellung der Dickschnitte wurde mit einem Lineal und wasserfestem Stift markiert (Abb. 18) und die Form der Blöcke gegebenenfalls mit einer Bandsäge der Einspannvorrichtung der Schnittsäge (Exakt Band System 300/301[®], Norderstedt, Deutschland) angepasst. Mit dieser Säge konnten nun jeweils 2 ca. 400 µm starke Dickschnitte hergestellt werden. Die Schnittebene verlief in Längsrichtung in der Mitte des Knochens senkrecht zur Auflagefläche der Platte und stellte den Defekt und die Anschnitte der konvergierenden Schraubenlöcher dar (Abb. 18 und 19). Die Schnitte wurden mit Wasser abgespült, mit 70% Ethanol gereinigt und zum Trocknen in Zellstofflagen für 24 Stunden unter Metallgewichten gelagert. Jeweils ein Dickschnitt einer Probe wurde zur Darstellung der Fluoreszenz und einer zur Färbung mit Toluidinblau zurückgehalten. Von letzteren wurde gruppenweise eine Mikroradiographie mit einem hochauflösenden Film (Fuji Photo Film Co.[®], Ltd. Tokyo, Japan) im Faxitron (27kv, 11s) angefertigt (Abb.M). Die Fluoreszenzschnitte wurden mit einem Schnellkleber (Cementit[®] Ca 12, Merz + Benteli AG, Niederwangen, Schweiz) auf einen Glas-Objekträger, die zu färbenden Dickschnitte auf einen opaken Acrylglasträger (Perspex GS Acrylglas Opal 1013, Wachendorf AG, Basel, Schweiz) geklebt und ebenfalls beschriftet. Letztere wurden mit einer Schleif- und Poliermaschine (Exakt Mikroschleifsystem 400 CS, Exakt Apparatebau GmbH, Norderstedt, Deutschland) auf eine Dicke von 300 µm abgeschliffen und mit der Oberflächenfärbung Toluidinblau angefärbt (Abb. 19). Dafür wurden die Oberflächen der Schnitte mit 0,7% Ameisensäure angeätzt und mit 60°C warmer Gebrauchs-Farblösung (1%ige Toluidinblau-O-Lösung mit 0,1 mol Phosphatpuffer, pH 8,0) für 10 bis 15 Minuten gefärbt. Reste der Farblösung wurden danach abgespült und die Schnitte getrocknet.

3.6 Untersuchungsmethoden und Probenauswertung

3.6.1 Radiologische Auswertung

3.6.1.1 Röntgenbilder

Aufgrund der engen Beziehung dieses Themas zur Humanmedizin und der dort üblichen Lagebezeichnung an der Tibia (anterior für die Vorderansicht und posterior für die Hinteransicht) wurde in dieser Arbeit darauf verzichtet, die für das Schaf korrekte Lagebezeichnung zu verwenden (kranial für die Vorderansicht und kaudal für die Hinteransicht). Die Bezeichnungen lateral und medial sind in beiden Gebieten identisch.

Mit einer speziell entwickelten Software (Mathlab Software, Mathworks, Natick, MA)⁵⁸ konnte die exakte Grösse des periostalen Kallus auf den digitalen, postoperativen Röntgenaufnahmen ausgewertet werden. Hierzu wurden drei Bereiche, die sowohl die frakturierte Kortex als auch den umgebenden Kallus beinhalteten, ausgewählt. Auf den 0°-Aufnahmen konnte der laterale, plattenferne Kallus evaluiert werden. Auf den 275°-Aufnahmen wurde der Kallus der anterioren Seite und auf den 265°-Aufnahmen der Kallus der posterioren Seite neben der Platte erfasst. Die Software erkannte und umriss zuerst die Kortex proximal und distal der Fraktur anhand des Intensitätsgradienten direkt am Kortextrand (Abb. 3a). Nachdem so die proximale und distale Kortex definiert wurde, konnte die Fraktur auf der kürzesten Strecke zwischen den beiden periostalen Kortexseiten mit einer Linie überbrückt werden (Abb. 3b). Dann wurde der gesamte Knochen bis einschliesslich der Überbrückungslinie ausgelöscht, um den periostalen Kallus zu isolieren und dessen Kontrast zu verbessern (Abb. 3c). Danach wurden alle Pixel als Kallus definiert, die 2 Stufen Differenz zum durchschnittlichen Graustufenwert des umliegenden Hintergrundes hatten (Abb. 3d). Schliesslich konnten die so entstandenen Linien über das originale Röntgenbild gelegt werden, um das Resultat zu visualisieren und zu überprüfen (Abb. 3e). Damit die Kallusgrösse berechnet werden konnte, wurde die Anzahl der Bildpunkte in der Kallusregion in eine metrische Messgrösse umgewandelt. Diese basierte auf dem jeweiligen Längenstandard, gemessen an der Länge der Abbildung des Plattenimplantats. Die errechneten Werte wurden tabellarisch festgehalten.

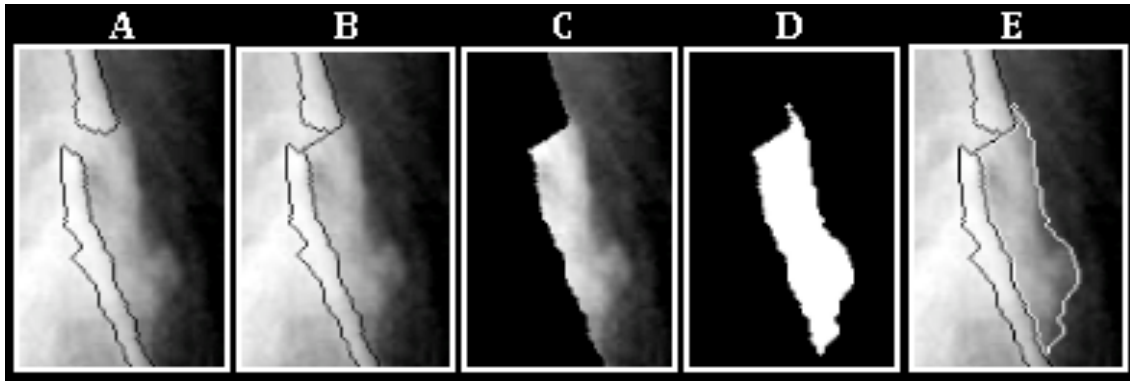


Abb. 3a bis e:
Darstellung der Auswertungsschritte zur Erfassung des Kallusflächeninhaltes im Röntgenbild

3.6.1.2 Mikroradiographien

Mit Hilfe der Mikroradiographien wurde das Ergebnis der Toluidinblau-Färbung der Dickschnitte auf die übereinstimmende Darstellung von röntgendichten Strukturen visuell überprüft. Auf eine gesonderte Auswertung wurde verzichtet.

3.6.1.3 CT-Auswertung

Die im Computertomographen entstandenen Dateien im DICOM-Format wurden mit einer speziellen Software (AMIRA®, Visage Imaging, San Diego, USA) ausgewertet. Im Menüpunkt „Label Voxel“ wurden Grenzwerte sowohl für den Kallus (50 HU) als auch für intakten Knochen/Kortex (1000 HU) festgesetzt und unter „Remove Islands“ das Volumen beider Materialien sowohl in der medialen als auch in der lateralen Hälfte der Probe berechnet. Aus den durchschnittlichen HU-Werten und den jeweiligen Volumina wurden unter „Tissue Statistics“ die durchschnittlichen Knochenmineraldichten (BMD, bone mineral density) berechnet, indem die HU- und BMD-Werte der Dichtephantome als Basis berücksichtigt wurden. Schliesslich konnte der jeweilige Knochenmineralgehalt (BMC, bone mineral content) als Produkt aus BMD und Volumen errechnet werden.

$$BMC [g] = BMD [g/cm^3] * Vol [cm^3]$$

BMC und BMD wurden ebenso jeweils für die mediale und laterale Region der Fraktur bestimmt. Unter „Area per slice“ wurden die entsprechenden Querschnittsflächen für Kallus- und Knochengewebe bestimmt und im Programm Excel die maximale Querschnittsfläche beider Gewebe errechnet.

Zusätzlich konnten die Knochen mit dem Kallusgewebe als Bild visualisiert und als TIF-Datei abgespeichert werden.

3.6.2 Auswertung der mechanischen Testungen

3.6.2.1 Biegesteifigkeit

Die Biegesteifigkeit (Abb. 4) wurde mit folgender Gleichung ermittelt:

$$R_{\text{Biegung}} = \frac{(F_2 - F_1) \cdot a^2 \cdot (3L - 4a)}{12 \cdot (d_2 - d_1) / 1000}$$

R_{Biegung} = Steifigkeit [Nm^2]

a = Abstand zwischen oberen und unteren Kontaktpunkten [m]

L = Abstand zwischen unteren Kontaktpunkten [m]

F_2 = maximale Kraft [N], F_1 = minimale Kraft [N]

d_2 = Bewegung bei F_2 [mm], d_1 = Bewegung bei F_1 [mm]

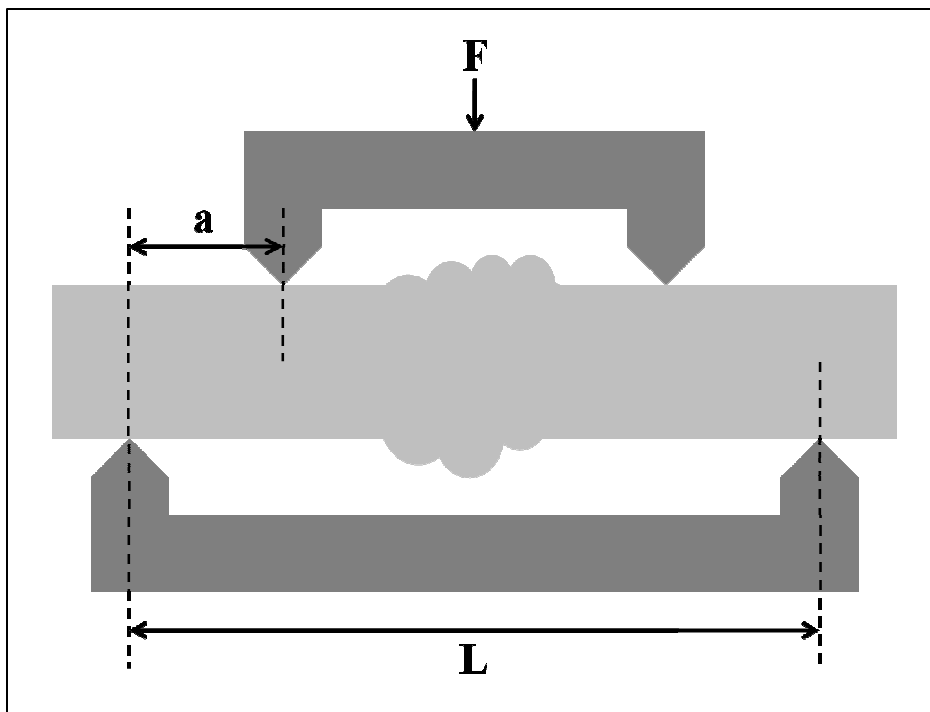


Abb. 4:
Schematische Darstellung der 4-Punkt-Biegung:
 F = einwirkende Kraft
 a = Abstand zwischen den oberen und unteren Kontaktpunkten
 L = Abstand zwischen den unteren Kontaktpunkten.

Oder vereinfacht:

$$R_{\text{Biegung}} = K_{\text{Biegung}} \frac{a^2 \cdot (3L - 4a)}{12/1000} \text{Nm}^2$$

K_{Biegung} = linearer Anstieg der Kraft [N/m].

3.6.2.2 Maximales Drehmoment

Das maximale Drehmoment wurde direkt gemessen.

3.6.2.3 Torsionssteifigkeit

Die Torsionssteifigkeit wurde wie folgt berechnet:

$$R_{\text{Torsional}} = \frac{(T_2 - T_1) \cdot L}{(r_2 - r_1)} \quad \text{oder: } R_{\text{Torsional}} = K_{\text{Torsion}} \cdot L$$

R_{Torsion} = Torsionssteifigkeit [Nm^2]

T_2 = maximales Drehmoment [Nm], T_1 = minimales Drehmoment [Nm]

r_2 = Rotation bei T_2 [Grad], r_1 = Rotation bei T_1 [Grad]

L = Länge der Probe in [m]

K_{Torsion} = linearer Anstieg des Drehmomentes in [Nm/Grad]

3.6.2.4 Bruchenergie

Die vom Knochen aufgenommene Energie [Nm-Grad] wurde durch die Berechnung des Flächeninhaltes unter der Torsionskurve unter Anwendung der Numerischen Integration (Trapez-Regel) ermittelt.

3.6.3 Histologische Auswertung

3.6.3.1 Histomorphometrische Auswertung der Dickschnitte

Die mit Toluidinblau gefärbten Dickschnitte wurden mit Hilfe eines speziellen Makroskops (Leica M420[®], Leica-Microsystems, Heerbrugg, Schweiz) inklusive einer Digitalkamera (Leica DC 200[®]) und dazugehöriger Software (Leica IM 1000[®]) in einen

Computer eingelesen und im TIF-Format abgespeichert. Diese digitalen Bilder konnten nun mit einer Bildbearbeitungssoftware (Adobe Photoshop Elements 4.0) auf die eigentliche quantitative Auswertung vorbereitet werden. Dazu wurde ein für alle Schnitte gleich grosser Bereich ausgewählt, in dem dann die verschiedenen Gewebe wie folgt angefärbt werden konnten:

- Alte Knochenmatrix = cyanblau
- Neue Knochenmatrix = waldgrün
- Fibröses Gewebe = pink
- Hintergrund = beige

Als fibröses Gewebe wurde mesenchymales und vaskuläres Gewebe bzw. Granulationsgewebe (inkl. Knochenmark) definiert. Als Hintergrund wurde alles ausserhalb des ausgewählten Bereichs angesehen (Abb. 5a). Mit der Auswertungssoftware (Leica Qwin[®], Leica Quips[®]) konnte dann die Pixelanzahl der gefärbten Strukturen bestimmt und die Werte in einer Tabelle zueinander in Relation gesetzt werden. Dabei wurde die Summe aus alter Knochenmatrix, neuer Knochenmatrix und fibrösem Gewebe gleich 100% gesetzt.

Als zweite Auswertungsmethode (M-Version) wurde der bereits angefärbte Bereich des Frakturspaltes in 6 gleich grosse Rechtecke aufgeteilt (Abb. 5b) und die Pixel der entsprechenden Gewebe ebenfalls mit der oben genannten Auswertungssoftware ausgezählt. Auch diese Werte wurden wie beschrieben zueinander in Relation gesetzt.

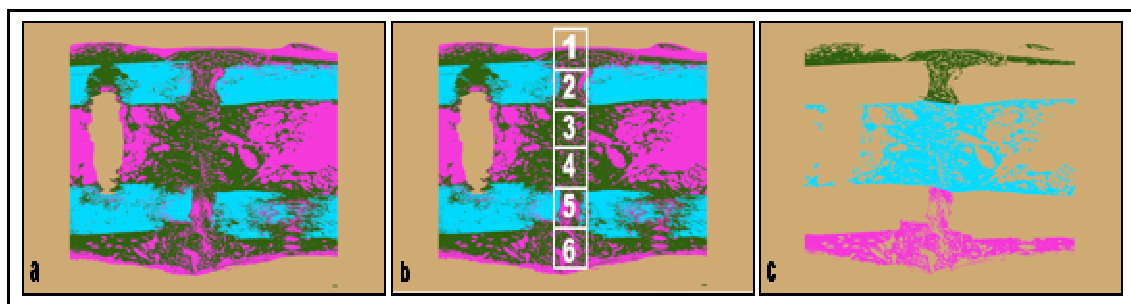


Abb. 5:
Darstellung der mit Photoshop umgefärbten Dickschnitte. Cyanblau = alte Knochenmatrix, waldgrün = neue Knochenmatrix, pink = fibröses Gewebe und beige = Hintergrund.
a: Übersichtsfärbung
b: Verteilung der 6 Auswertungsbereiche entlang des Frakturspaltes (M-Methode)
c: Aufteilung des neuen Knochengewebes in Kallus an der Cis- und Trans-Kortex und endostaler Kallus (B-Methode).

Für eine dritte Auswertungsmethode (B-Version) wurden fibröses Gewebe und alte Knochenmatrix wie der Hintergrund beige gefärbt und die verbleibende neue Knochenmatrix in 3 Zonen aufgeteilt. Wie in Abb. 5c ersichtlich, wurde der Bereich des periostalen Kallus an der Cis-Kortex, inkl. des interkortikalen Gewebes waldgrün coloriert, der endostale Kallus bekam die Farbe Cyanblau zugewiesen. Der periostale Kallus an der Trans-Kortex inklusive des interkortikalen Gewebes wurde pink gefärbt (Abb. 5c). Auch die Pixel dieser Gewebe wurden ausgezählt und deren Werte in einer Excel-Tabelle zueinander in Beziehung gesetzt, wobei hier die Summe aus periostalem und endostalem Kallus als Bezugsgrösse (100%) galt.

Durch die Addition der Resultate aus den Feldern 1, 2 und 3 sowie der Positionen 4, 5 und 6 wurde der Frakturspalt in eine mediale und eine laterale Hälfte eingeteilt und ebenfalls statistisch ausgewertet.

3.6.3.2 Auswertung der Fluoreszenzschnitte

Die Fluoreszenzschnitte wurden mit einem Mikroskop (Leica DM 6000B[®], Leica CTR 6000[®]), speziellen Digitalkameras (Leica DFC 420C[®]) und dazugehöriger Software (LAS AF 6000[®]) ebenfalls auf einem Computer eingelesen und im TIF-Format abgespeichert. Durch spezielle Filter konnte das Knochengewebe, das zum Zeitpunkt der Injektion der Fluoreszenzfarbstoffe aktiv war, farbig dargestellt werden. Aktiver Knochen in Woche 4 post operationem stellte sich grün (Calcein-Grün) und jener in Woche 7 post operationem rot (Xylenol-Orange) dar. Zur Auswertung wurde von insgesamt neun ausgewählten Bereichen pro Fluoreszenzschnitt jeweils eine Aufnahme pro Zeitraum (4 Wochen und 7 Wochen post operationem) gemacht (Abb. 21 bis 24). Die Verteilung der relevanten Ausschnitte ist in folgender Abbildung (Abb. 6) ersichtlich. Mit dem Bildbearbeitungsprogramm Adobe Photoshop wurden die unterschiedlich hellen Pixel der Grün- bzw. Rottöne mit einer Toleranz von maximal 200 Stufen ab dem hellsten Farbwert (255) mit einer detektierbaren Farbe (Grün = Cyanblau, Rot = Pink) eingefärbt. Das heisst, es wurden alle Pixel einer Farbe mit einem Helligkeitswert von mehr als 55 ausgewählt und angefärbt. Alle restlichen Pixel wurden beige gefärbt. So konnten auch diese Bilder mit der beschriebenen Auswertungssoftware ausgelesen werden. Die Werte wurden hier in Relation zur stets gleichen Gesamtpixelzahl der Bilddatei gesetzt.

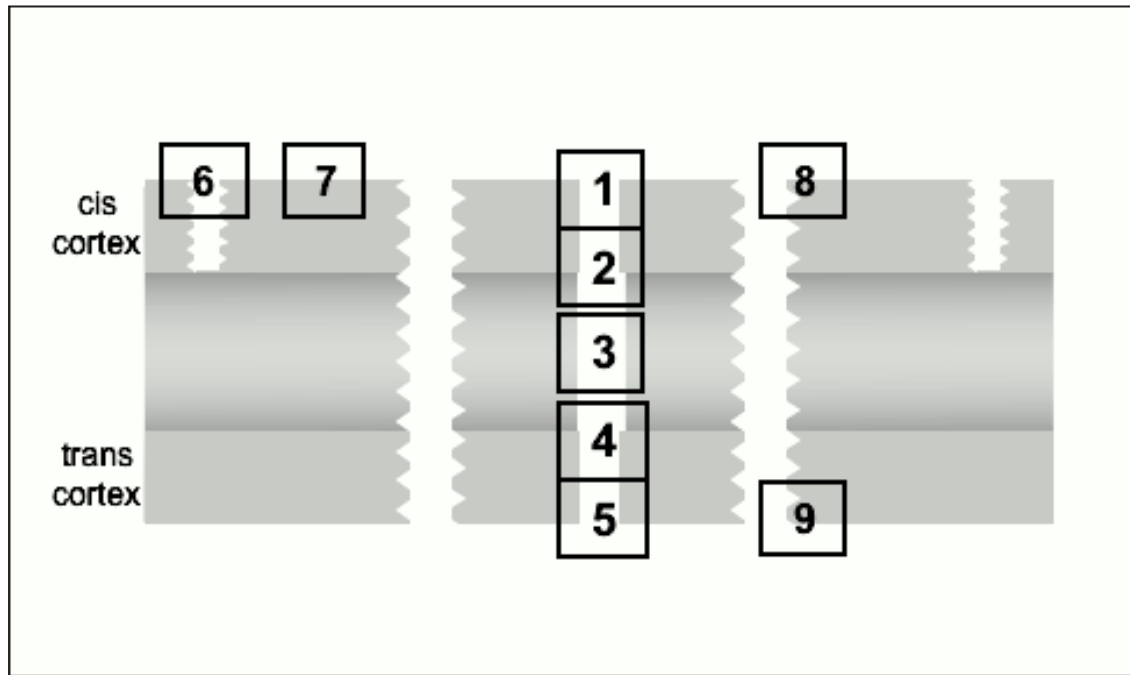


Abb. 6:
Schematische Darstellung der Ausschnittverteilung für die Auswertung der Fluoreszenzschnitte.

Alle Positionen wurden einzeln zu beiden Zeitpunkten statistisch ausgewertet. Zusätzlich wurden durch die Addition der Werte aus den Positionen 1 und 2 die Verhältnisse an der Cis-Kortex dargestellt und die Summe der Resultate aus den Positionen 4 und 5 war massgeblich für die Verhältnisse an der Trans-Kortex. Auch hier wurden statistische Analysen angefertigt. Die Gesamtsumme der Einzelresultate aller Positionen wurde ebenfalls berechnet und statistisch ausgewertet.

3.6.4 Statistische Auswertung

Die gewonnenen und errechneten Werte wurden mit einem Statistikprogramm (SPSS® Base für Mac OS X, Version 17.0, Chicago, Illinois) analysiert. Es wurden 3 (LP, FCL1, FCL2) bzw. 4 (intakter Knochen) Gruppen untereinander verglichen, indem die Werte einer faktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen wurden. Hierbei wurden die Daten der deskriptiven Statistik (Mittelwerte und Standardabweichung) ermittelt. Post Hoc Tests wurden nach Bonferroni durchgeführt. Innerhalb der Gruppen wurde für den Seitenvergleich in den histologischen und computertomographischen Auswertungen bzw. den zeitlichen Vergleich in der Fluoreszenzauswertung ein T-Test durchgeführt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als statistisch signifikant erachtet. Die Korrelationen wurden nach Pearson ermittelt, *p-Werte < 0,05 galten als signifikant und **p-Werte < 0,01 als hochsignifikant.

4 Resultate

4.1 Operation

Alle Operationen fanden planmässig statt und verliefen komplikationslos. Alle Schafe überstanden die Narkose ohne Zwischenfälle. Beim Eindrehen der Schraubenköpfe in das Gewinde der Platte traten vereinzelt Komplikationen auf. Insgesamt 6 von total 114 Schrauben verkanteten sich bei 5 Implantaten leicht (Nr. 4207/S6, Nr. 4208/S2, Nr. 4211/S1, Nr. 4212/S1+S4, Nr. 4217/S4). Bei 2 Gewindelöchern lösten sich kleine Metallteile, die ein Eindrehen verhinderten. Mit einem extra dafür vorgesehenen und hergestellten speziellen Gewindevorschneider konnten diese aber noch intra operationem bearbeitet werden, sodass schliesslich alle Schrauben sicher verankert und somit die Winkelstabilität bei allen Implantaten gleichmässig gewährleistet werden konnte. Bei dem Schaf Nr. 4213 kam es nach Beendigung der Osteotomie zu einer starken Blutung aus der Arteria tibialis cranialis, welche aber schnell durch das Abbinden des Gefässes gestillt werden konnte. Die Wunde konnte stets problemlos über dem 5,6 mm starken Implantat verschlossen werden.

4.2 Postoperative Phase

Sowohl in der Aufwachphase als auch bei dem Transport zum Stall traten ausser bei Schaf Nr. 4208 keine Probleme auf. Dieses Tier zeigte unmittelbar nach Extubation eine Hypoxämie, welche aber schnell durch Reintubation, Beatmung und die Gabe von Dimazon und Phenylephrin behoben werden konnte. Die Tiere zeigten schon bald Fresslust und belasteten die operierte Gliedmasse gut. Nur am Tag nach der Operation zeigten sie jeweils geringgradig reduziertes Fressverhalten. Die Hängevorrichtung, der Castverband und auch der wöchentliche Castwechsel wurden von den Tieren gut toleriert. Es kam bei zwei Schafen zu durch das Netz verursachten Scheuerstellen im Achselbereich, die aber mit Wundsalbe und Repositionierung des Netzes gut zur Abheilung gebracht werden konnten. Zwei weitere Tiere zeigten kleine Druckstellen am Knie, welche ebenfalls nach dem Verbandswechsel gut verheilten. Bei 3 Tieren der FCL1-Gruppe (Nr. 4208, Nr. 4210 und Nr. 4213) wurde jeweils beim ersten Verbandswechsel nach 3 Wochen ein Bruch der Implantate (alle 3 proximalen Schrauben) festgestellt. Diese Tiere wurden sofort euthanasiert und fielen somit aus

dem Versuch. Bei den Tieren Nr. 4203 und Nr. 4204 brach der Castverband jeweils auf Höhe des Fesselgelenkes und wurde sofort ohne Folgen erneuert.

4.3 Radiologische Auswertung

4.3.1 Röntgenbilder

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Kallusflächeninhalte können der Tabelle 1 entnommen werden. Weiterhin sind die Werte in den Diagrammen 1 bis 5 im Anhang graphisch dargestellt. Die genauen Einzelwerte der radiologischen Auswertung sind in den Tabellen 13a bis c im Anhang ersichtlich.

Tab. 1:

Ergebnisse der radiologischen Auswertung.

Mittelwerte und Standardabweichungen der Flächeninhalte in [mm²] zu sieben aufeinanderfolgenden Zeitpunkten (Woche 3 bis 9 post operationem) in den Ebenen anterior, posterior und lateral sowie der Summe aus der anterioren und posterioren Ebene und der Gesamtsumme (total).

Ebene	Gruppen	Kallus W 3 [mm ²]	Kallus W4 [mm ²]	Kallus W5 [mm ²]	Kallus W6 [mm ²]	Kallus W7 [mm ²]	Kallus W8 [mm ²]	Kallus W9 [mm ²]
anterior	FCL1	29 ± 33	61 ± 48	84 ± 51	148 ± 76	144 ± 82	98 ± 56	123 ± 40
	FCL2	25 ± 15	54 ± 26	88 ± 28	107 ± 54	119 ± 57	77 ± 49	65 ± 49
	LP	7 ± 9	23 ± 17	32 ± 30	29 ± 18	22 ± 14	12 ± 11	13 ± 7
posterior	FCL1	54 ± 33	111 ± 66	149 ± 77	163 ± 72	184 ± 66	192 ± 91	213 ± 76
	FCL2	50 ± 34	98 ± 40	129 ± 40	134 ± 47	131 ± 31	129 ± 35	120 ± 25
	LP	32 ± 26	75 ± 49	102 ± 54	101 ± 57	104 ± 52	96 ± 59	101 ± 43
lateral	FCL1	47 ± 31	126 ± 34	126 ± 65	166 ± 27	174 ± 47	165 ± 26	165 ± 12
	FCL2	91 ± 53	148 ± 49	198 ± 37	201 ± 23	210 ± 21	187 ± 23	152 ± 20
	LP	37 ± 39	97 ± 27	144 ± 25	157 ± 31	165 ± 26	145 ± 26	133 ± 26
anterior + posterior	FCL1	83 ± 66	172 ± 114	234 ± 128	311 ± 144	328 ± 130	290 ± 129	336 ± 109
	FCL2	75 ± 41	152 ± 58	217 ± 57	242 ± 94	250 ± 82	206 ± 78	186 ± 57
	LP	39 ± 33	98 ± 59	134 ± 69	130 ± 67	127 ± 59	108 ± 66	114 ± 44
total	FCL1	130 ± 86	299 ± 135	360 ± 189	477 ± 159	502 ± 143	456 ± 139	500 ± 114
	FCL2	166 ± 89	300 ± 78	414 ± 76	443 ± 110	460 ± 97	393 ± 93	338 ± 68
	LP	76 ± 64	194 ± 74	278 ± 89	287 ± 65	291 ± 59	253 ± 67	247 ± 29

Beim Vergleich der Gruppen zeigte sich, dass die Werte der LP-Gruppe bis auf eine Ausnahme (Woche 5, Kallus lateral) stets mit deutlichem Abstand unter denen der FCL-Gruppen lagen. Ebenso wurde ein relativ gleichmässiger Anstieg der Werte bis zur sechsten bzw. zur siebten Woche post operationem festgestellt. Die Werte der LP-Gruppe für den anterioren Kallus zeigten einen schwächeren Anstieg. Bis auf die Werte der FCL1-Gruppe für den posterioren Kallus wurden die Flächeninhalte zur achten Woche hin stets kleiner.

Der anterior gemessene Kallus der FCL-Gruppen war von Woche 3 bis 5 annähernd gleich gross ($p = 1$). In der dritten Woche waren die Werte 3fach, in der vierten Woche

2fach und in der fünften Woche wieder fast 3fach grösser als der Kallus der LP-Gruppe. Dennoch waren diese Unterschiede nicht signifikant. Ab Woche 5 wurden die Kallusflächeninhalte der LP-Gruppe geringgradig kleiner, während die der FCL-Gruppen bis zur siebten Woche weiter anstiegen. So ergaben sich für Woche 6 ein tendenzieller Unterschied zur FCL2-Gruppe ($p = 0,06$) und ein signifikanter Unterschied zur FCL1-Gruppe ($p = 0,01$). Die in Woche 7 gemessenen Werte der FCL1-Gruppe waren 6,5fach grösser ($p = 0,01$) und die der FCL2-Gruppe 5,5fach ($p = 0,02$) grösser als die der LP-Gruppe. Ab der achten Woche wurde auch für die Werte der FCL-Gruppen ein deutlicher Abfall der Flächeninhalte sichtbar. Die Unterschiede zur LP-Gruppe waren weiterhin signifikant ($p_{FCL1} = 0,02$, $p_{FCL2} = 0,05$). In Woche 9 konnte zwischen den Gruppen LP und FCL2 kein signifikanter Unterschied festgestellt werden, obgleich der Wert der FCL2-Gruppe 5fach grösser war. Der wieder angestiegene Wert der FCL1 Gruppe war 9,5fach höher als der der LP-Gruppe ($p = 0,001$).

Für den posterior gemessenen Kallus ergaben sich für die LP- und die FCL2-Gruppe annähernd parallele Kurvenverläufe ohne signifikante Unterschiede. Die Kurve der FCL1-Gruppe zeigte ab der sechsten Woche einen etwas steileren Anstieg. Die Werte aus Woche 7 und 8 waren tendenziell unterschiedlich zu den Werten der LP-Gruppe ($p_7 = 0,08$, $p_8 = 0,09$). In Woche 9 wurden signifikante Unterschiede der FCL1-Gruppe sowohl zur LP-Gruppe ($p = 0,001$) als auch zur FCL2-Gruppe ($p = 0,03$) festgestellt. Aus der Addition der Flächeninhalte des anterioren und posterioren Kallus ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen der FCL1-Gruppe und der LP-Gruppe von Woche 6 bis 9 ($p_6 = 0,04$, $p_7 = 0,01$, $p_8 = 0,02$, $p_9 = 0,001$). In der siebten Woche ergab sich ein tendenzieller Unterschied zwischen der FCL2-Gruppe und der LP-Gruppe ($p = 0,09$). Bei der Auswertung der 0°-Röntgenaufnahmen fiel auf, dass der Flächeninhalt des lateralen Kallus der FCL2-Gruppe von Woche 3 bis 8 grösser war als der der beiden anderen Gruppen. In Woche 5 konnte erstmalig ein grösserer Flächeninhalt der LP-Gruppe im Vergleich zur FCL1-Gruppe dargestellt werden. In Woche 6 und 8 wurde ein signifikanter Unterschied der FCL1- zur LP-Gruppe dargestellt ($p_6 = 0,05$, $p_8 = 0,04$). Alle Kurven verliefen annähernd parallel und zeigten in Woche 7 für alle 3 Gruppen den jeweils höchsten Wert. Dieser Unterschied war nicht signifikant ($p = 1$). In der neunten Woche war der Wert der FCL2-Gruppe dicht unter dem der FCL1-Gruppe ($p = 1$).

Aus der Summe aller gemessenen Flächeninhalte (anterior, posterior und lateral) fielen für die ersten 3 Messzeitpunkte annähernd parallele Kurvenverläufe mit deutlichen, aber nicht signifikanten Unterschieden der LP-Gruppe zu den FCL-Gruppen auf. Für die letzten 4 Messzeitpunkte ergaben sich zwischen der FCL1- und der LP-Gruppe signifikante Unterschiede ($p_6 = 0,017$, $p_7 = 0,01$, $p_8 = 0,02$, $p_9 = 0,00$). Der Unterschied zwischen den Flächeninhalten der LP- und der FCL2-Gruppe war in den Wochen 6 und 7 ebenfalls signifikant ($p_6 = 0,05$, $p_7 = 0,03$). Auch hier konnten für alle 3 Gruppen die höchsten Werte in Woche 7 festgestellt werden. Durch den steileren Abfall der FCL2-Werte waren die Unterschiede zu den Werten der LP-Gruppe in den Wochen 8 und 9 nicht mehr signifikant ($p_8 = 0,08$, $p_9 = 0,09$). Der Anstieg des Kallusflächeninhaltes der FCL1-Gruppe in der neunten Woche bedingte einen signifikanten Unterschied zu dem Wert der FCL2-Gruppe ($p = 0,01$).

4.3.2 Mikroradiographien

Der visuelle Direktvergleich von Mikroradiographien und gefärbten Dickschnitten ergab eine hohe Übereinstimmung von röntgendichten zu blau angefärbten Strukturen (Abb. 19 und 20).

4.3.3 CT

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Variablen können den Tabellen 2 und 3 entnommen werden. Weiterhin sind die Werte in den Diagrammen 6 bis 12 im Anhang graphisch dargestellt. Die genauen Einzelwerte der computertomographischen Auswertung sind in den Tabellen 14a und b im Anhang ersichtlich.

Tab. 2:
Ergebnisse der CT-Auswertung.
Mittelwerte und Standardabweichungen von Kallusvolumen [mm^3], Knochenmineralkonzentration [mgHA], Knochenmineraldichte [mgHA/cm^3] und Maximaler Querschnittsfläche [mm^2].

Gruppe	Volumen [mm^3]	Knochenmineral- konzentration [mgHA]	Knochenmineral- dichte [mgHA/cm^3]	Maximale Querschnitts- fläche [mm^2]
LP	4427,47 ± 910,80	2739,60 ± 597,92	659,27 ± 83,59	454,24 ± 53,68
FCL1	7870,43 ± 661,02	4824,88 ± 573,81	611,95 ± 2612	688,10 ± 30,36
FCL2	5948,42 ± 997,56	4151,63 ± 1019,08	700,93 ± 36,22	554,14 ± 115,31

Tab. 3:
Ergebnisse der CT-Auswertung im Seitenvergleich.
Mittelwerte und Standardabweichungen von Kallusvolumen [mm³], Knochenmineralkonzentration [mgHA] und Knochenmineraldichte [mgHA/cm³].

Gruppe	Position	Volumen [mm ³]	Knochenmineralkonzentration [mgHA]	Knochenmineraldichte [mgHA/cm ³]
LP	medial	1583,62 ± 324,70	923,28 ± 162,96	617,57 ± 53,82
	lateral	2790,16 ± 627,58	1808,76 ± 485,29	688,32 ± 109,60
FCL1	medial	3256,09 ± 596,55	1937,83 ± 474,24	590,61 ± 44,08
	lateral	4136,49 ± 578,33	2583,07 ± 401,54	625,27 ± 56,66
FCL2	medial	2733,06 ± 1353,18	1603,13 ± 24,82	585,64 ± 59,08
	lateral	2933,56 ± 730,38	1791,13 ± 1047,94	590,69 ± 295,49

4.3.3.1 Kallusvolumen

Das kleinste Kallusvolumen wurde in der LP-Gruppe gefunden. Das Resultat der FCL1-Gruppe war mit einer Signifikanz von $p = 0,001$ fast doppelt so gross (1,78fach) wie das der LP-Gruppe. Das Kallusvolumen der FCL2-Gruppe war deutlich, aber nicht signifikant grösser als das der LP-Gruppe ($p = 0,061$). Die Werte der FCL-Gruppen untereinander unterschieden sich ebenfalls signifikant ($p = 0,033$).

Im Seitenvergleich zeigte sich für die LP-Gruppe ein hochsignifikant, 1,76fach grösseres Volumen auf der lateralen Seite ($p = 0,003$), wohingegen die Unterschiede zwischen den lateralen und medialen Volumina beider FCL-Gruppen nicht signifikant waren ($p_{FCL1} = 0,182$, $p_{FCL2} = 0,864$).

4.3.3.2 Knochenmineraldichte

Die grösste Knochenmineraldichte wies die FCL2-Gruppe auf. Sie unterschied sich signifikant von der FCL1-Gruppe ($p = 0,016$). Zur LP-Gruppe bestand kein signifikanter Unterschied ($p = 0,686$). Der Wert der LP-Gruppe war grösser als der Wert der FCL1-Gruppe ($p = 0,562$), jedoch nicht signifikant.

Die Knochenmineraldichten der medialen und der lateralen Hälfte unterschieden sich in allen Gruppen nur geringgradig, wobei der Unterschied in der LP-Gruppe am grössten war ($p_{LP} = 0,095$, $p_{FCL1} = 0,502$, $p_{FCL2} = 0,641$). Weiterhin konnten signifikante Unterschiede der medialen Knochenmineraldichte erhoben werden. So war der Wert der

FCL2-Gruppe jeweils signifikant grösser als die Werte der LP- und FCL1-Gruppe ($p_{LP} = 0,019$, $p_{FCL1} = 0,007$).

4.3.3.3 Knochenmineralkonzentration

Für die Knochenmineralkonzentration ergab sich eine klare Signifikanz zwischen dem Wert der LP-Gruppe und dem deutlich grösseren Wert der FCL1-Gruppe ($p = 0,002$). Ebenso war die Mineraleichte der FCL2-Gruppe mit einer Signifikanz von $p = 0,020$ grösser als die der LP-Gruppe.

Im Seitenvergleich war die mediale Knochenmineralkonzentration der LP-Gruppe hochsignifikant ($p = 0,003$) kleiner als die laterale. In den FCL-Gruppen bestand kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Seiten ($p_{FCL1} = 0,224$, $p_{FCL2} = 0,913$).

4.3.3.4 Maximale Querschnittsfläche

Zwischen den Werten für die Maximale Querschnittsfläche ergaben sich jeweils signifikante Unterschiede. Die FCL1-Gruppe ($p < 0,001$) sowie die FCL2-Gruppe ($p = 0,034$) erreichten einen signifikant grösseren Wert als die LP-Gruppe. Ebenso unterschied sich die Querschnittsfläche der FCL2-Gruppe mit einer Signifikanz von $p = 0,012$ von der der FCL1-Gruppe.

Es wurde eine hochsignifikante, positive Korrelation zwischen der maximalen Querschnittsfläche und dem Kallusvolumen festgestellt ($p = 0,000$).

4.4 Mechanische Testungen

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Messgrößen können den Tabellen 4 und 5 entnommen werden. Weiterhin sind die Werte in den Diagrammen 13 bis 16 im Anhang graphisch dargestellt. Die genauen Einzelwerte der mechanischen Auswertung sind in den Tabellen 15 und 16 im Anhang ersichtlich.

Tab. 4:

Ergebnisse der Biegeversuche.

Mittelwerte und Standardabweichungen der Biegesteifigkeiten [Nm²] in den 4 Ebenen Anterior, Lateral, Posterior und Medial.

Gruppe	Anterior	Lateral	Posterior	Medial
LP	76,57 ± 31,93	87,62 ± 35,28	89,75 ± 41,01	107,25 ± 34,93
FCL1	102,44 ± 51,82	93,55 ± 57,13	106,88 ± 58,12	106,33 ± 35,63
FCL2	96,72 ± 22,20	122,44 ± 29,12	77,18 ± 22,36	111,28 ± 13,80
Intakter Knochen	128,44 ± 34,67	151,59 ± 23,99	115,68 ± 50,49	139,97 ± 36,42

Tab. 5:

Ergebnisse der Torsionsversuche.

Mittelwerte und Standardabweichungen der Torsionssteifigkeit [Nm²/Grad], des maximalen Drehmomentes [Nm] und der Bruchenergie [Nm-Grad].

Gruppe	Torsionssteifigkeit [Nm ² /Grad]	maximales Drehmoment [Nm]	Bruchenergie [Nm-Grad]
LP	0,76 ± 0,23	26,18 ± 12,37	109,83 ± 54,33
FCL1	1,01 ± 0,20	42,52 ± 7,05	206,41 ± 40,56
FCL2	0,86 ± 0,14	43,42 ± 6,26	282,08 ± 55,18
Intakter Knochen	0,88 ± 0,19	59,86 ± 21,72	441,17 ± 196,73

4.4.1 Biegesteifigkeit

Die Ergebnisse der Biegesteifigkeitsmessung in den einzelnen Ebenen und Gruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Im Einzelnen erreichte in Ebene A die FCL1-Gruppe die höchste Biegesteifigkeit, dicht gefolgt von der FCL2-Gruppe und mit etwas grösserem Abstand die LP-Gruppe ($p = 1$). In Ebene L erreichte die FCL2-Gruppe die höchste Biegesteifigkeit, dicht gefolgt von der FCL1-Gruppe ($p = 1$). Für die LP-Gruppe ergab sich ein nicht signifikant kleinerer Wert ($p = 0,540$). Die grösste Biegesteifigkeit in der Ebene P erreichte die FCL1-

Gruppe vor der LP- und FCL2-Gruppe ($p = 1$). In Ebene M lagen alle Werte im selben Bereich ($p = 1$).

Im Vergleich zum intakten Knochen fiel auf, dass die LP-Gruppe in den Ebenen A und L signifikant kleinere Werte erzielte ($p_A = 0,05$, $p_L = 0,009$). Alle übrigen Werte waren ebenso kleiner als die des intakten Knochens, jedoch nicht signifikant. Die LP-Gruppe erreichte in keiner der 4 Ebenen den höchsten Wert.

4.4.2 Maximales Drehmoment

Das höchste maximale Drehmoment erreichte die FCL2-Gruppe, dicht gefolgt von der FCL1-Gruppe. Der Unterschied der FCL2-Gruppe zu dem Wert der LP-Gruppe war signifikant ($p = 0,041$). Im Vergleich zu den intakten Knochen wurde deutlich, dass die LP-Gruppe ein signifikant kleineres Drehmoment erreichte ($p = 0,000$). Die Werte der FCL-Gruppen waren kleiner als die des intakten Knochens, die Unterschiede aber nicht signifikant.

4.4.3 Torsionssteifigkeit

Die grösste Torsionssteifigkeit erreichte die FCL1-Gruppe, gefolgt von der FCL2-Gruppe ($p = 0,481$). Die LP-Gruppe wies die niedrigste Torsionssteifigkeit auf, der Unterschied zur FCL1-Gruppe war nicht signifikant ($p = 0,145$). Die durchschnittliche Torsionssteifigkeit der intakten Knochen war kleiner als die der FCL1-Gruppe, etwa gleich gross wie die der FCL2-Gruppe und grösser als die der LP-Gruppe.

4.4.4 Bruchmuster

Nach White et al. konnten die Bruchmuster nach maximalem Drehmoment den 4 Frakturheilungsstufen zugeordnet werden. Die genauen Werte, Mittelwerte und Standardabweichungen sind in der Tabelle 6 ersichtlich. Die Hälfte der LP-Proben erreichte die Frakturheilungsstufe 3, im Mittel lag die LP-Gruppe bei 2,33. Die Knochen der FCL1-Gruppe konnten, bis auf einen, der Stufe 3 zugeordnet werden (Mittelwert = 2,75). Es erreichten 4 von 6 Proben der FCL2-Gruppe die höchste Stufe 4 mit einem Mittelwert von 3,5. Die statistisch errechneten Unterschiede waren nicht signifikant.

Tab. 6:

Zuordnung der Bruchmuster nach maximalem Drehmoment zu den 4 Frakturheilungsstufen nach White et al.²⁹ Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen.

Gruppe	Schafnr.	Frakturheilungsstufe nach White et al.	Mittelwert / Standardabweichung
LP	4201	3	2,33 ± 0,82
	4203	1	
	4205	3	
	4207	2	
	4209	3	
	4211	2	
FCL1	4202	2	2,75 ± 0,50
	4204	3	
	4206	3	
	4212	3	
FCL2	4214	4	3,5 ± 0,84
	4215	2	
	4216	3	
	4217	4	
	4218	4	
	4219	4	

4.4.5 Bruchenergie

Die Knochen der LP-Gruppe absorbierten bis zum Versagen eine signifikant kleinere Menge an Energie als die der FCL1-Gruppe ($p = 0,032$) und die der FCL2-Gruppe ($p < 0,001$). Der Unterschied zwischen den FCL-Gruppen war deutlich, aber nicht signifikant ($p = 0,098$). Im Vergleich zur Gruppe der intakten Knochen konnte dargestellt werden, dass die Gruppen LP ($p = 0,000$) und FCL1 ($p = 0,039$) signifikant weniger Energie absorbierten. Der Unterschied zur FCL2-Gruppe war nicht signifikant.

Zwischen den Daten der computertomographischen Auswertung und den mechanischen Tests ergaben sich signifikante und hochsignifikante Korrelationen. Das Kallusvolumen korrelierte sowohl mit dem maximalen Drehmoment ($p = 0,029$) als auch mit der Bruchenergie ($p = 0,047$) positiv. Eine hochsignifikante, positive Korrelation wurde zwischen der Knochenminerkonzentration und dem maximalen Drehmoment ($p = 0,002$) bzw. der Bruchenergie ($p = 0,005$) festgestellt. Weiterhin korrelierte die maximale Querschnittsfläche positiv mit dem maximalen Drehmoment ($p = 0,034$).

4.5 Histologische Auswertung

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Messgrößen können den Tabellen 7 bis 9 entnommen werden. Weiterhin sind die Werte in den Diagrammen 17 bis 19 im Anhang graphisch dargestellt. Die genauen Einzelwerte der histologischen Auswertung sind in den Tabellen 17 bis 19a und b im Anhang ersichtlich.

4.5.1 Histomorphometrie der Dickschnitte

Zunächst wurde in den Toluidinblau gefärbten Dickschnitten ersichtlich, dass das neugebildete Knochengewebe hauptsächlich aus ungerichteten Geflechtknochen bestand und kavernenartige Hohlräume mit fibrösem Bindegewebe gefüllt waren. Bei 3 von 6 Proben der LP-Gruppe konnte eine fehlende bzw. unvollständige Durchbauung der Fraktur an der Cis-Kortex festgestellt werden. Bei den Proben der FCL-Gruppen war dies nicht der Fall, alle Kortizes waren vollständig mit Kallusgewebe durchbaut.

4.5.1.1 Übersicht

Tab. 7:

Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertung (Übersicht).

Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Gewebezusammensetzung aus alter und neuer Knochenmatrix und fibrösem Gewebe.

Gruppen	alte Knochenmatrix	neue Knochenmatrix	fibröses Gewebe
LP	30,72 ± 3,73	28,72 ± 7,19	40,56 ± 5,46
FCL1	28,28 ± 4,44	38,36 ± 7,56	33,35 ± 6,80
FCL2	22,24 ± 3,19	33,56 ± 4,18	44,19 ± 5,81

Den grössten Anteil an alter Knochenmatrix wies die LP-Gruppe auf, wobei der Unterschied zum nächst kleineren Wert der FCL1-Gruppe nicht signifikant ($p = 0,988$) war. In der FCL2-Gruppe konnte der kleinste Wert festgestellt werden. Der Unterschied zur LP-Gruppe war hochsignifikant ($p = 0,005$). In der FCL2-Gruppe war tendenziell weniger alter Knochen zu finden als in der FCL1-Gruppe ($p = 0,077$).

Den geringsten Anteil neuer Knochenmatrix wies die LP-Gruppe auf. Die grösste Menge an neu gebildetem Knochen konnte in der FCL1-Gruppe beobachtet werden. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war nicht signifikant ($p = 0,102$). Der in der

FCL2-Gruppe festgestellte Wert lag mit etwa gleichen, nicht signifikanten Abständen zwischen den Werten der beiden anderen Gruppen.

Das meiste fibröse Gewebe konnte in der FCL2-Gruppe nachgewiesen werden, wobei sowohl zum nächst kleineren Wert (LP-Gruppe, $p = 0,923$) als auch zum niedrigsten Wert (FCL1-Gruppe, $p = 0,42$) kein signifikanter Unterschied bestand.

Es war eine negative Korrelation zwischen neuer Knochenmatrix und fibrösem Gewebe ($r = -0,727$, $p = 0,001$) festzustellen.

4.5.1.2 B-Methode

Tab. 8:

Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertung (B-Methode).

Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Kalluszusammensetzung aus dem Kallus an der Cis- bzw. der Trans-Kortex sowie dem endostalen Kallus.

Gruppe	Kallus Cis	Kallus Trans	Kallus endostal
LP	$12,69 \pm 4,64$	$56,49 \pm 9,93$	$30,82 \pm 9,93$
FCL1	$16,17 \pm 7,94$	$44,51 \pm 12,55$	$39,32 \pm 18,01$
FCL2	$16,75 \pm 5,27$	$55,74 \pm 8,92$	$27,52 \pm 8,09$

Die Auswertung der Kallusverteilung zeigte, dass sich die Werte des Cis-Kallus in den einzelnen Gruppen kaum unterschieden. Der Wert der LP-Gruppe lag dicht unter dem Wert der FCL1-Gruppe ($p = 1$) und dem fast gleich grossen Wert der FCL2-Gruppe ($p = 0,738$).

An der Trans-Kortex der FCL1-Gruppe konnte der geringste prozentuale Anteil an neuer Knochenmatrix festgestellt werden. In der LP-Gruppe wurde der grösste Anteil nachgewiesen, jedoch war der Unterschied nicht signifikant ($p = 0,279$). Der Abstand zwischen der FCL1- und der FCL2-Gruppe stellte sich ebenfalls als nicht signifikant heraus ($p = 0,339$). Die Differenz zwischen der LP- und der FCL2-Gruppe war sehr gering ($p = 1$). Der grösste prozentuale Anteil an endostalem Kallus wurde in der FCL1-Gruppe nachgewiesen. Der Unterschied zu der Gruppe mit dem geringsten Anteil (FCL2) war nicht signifikant ($p = 0,43$). Ebenso stellte sich der Abstand zwischen der FCL1- und der LP-Gruppe als nicht signifikant heraus ($p = 0,847$). Es zeigte sich, dass der endostale Kallus negativ mit dem Trans-Kallus korrelierte ($r = -0,878$, $p = 0,000$).

4.5.1.3 M-Methode

Tab. 9a:

Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertung (M-Methode).

Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Gewebezusammensetzung aus alter und neuer Knochenmatrix und fibrösem Gewebe in jeweils 6 einzelnen Positionen im Dickschnitt sowie der Summen der Positionen 1 bis 3 für die mediale Hälfte und der Summe der Positionen 4 bis 6 für die laterale Hälfte.

Gruppe	Position	alte Knochenmatrix	neue Knochenmatrix	fibröses Gewebe
LP	M1	1,50 ± 3,24	41,74 ± 24,98	56,76 ± 23,64
	M2	8,65 ± 1,43	47,64 ± 22,93	43,71 ± 21,94
	M3	0,30 ± 0,37	38,24 ± 26,26	61,45 ± 26,16
	M4	0,33 ± 0,61	51,73 ± 31,38	47,94 ± 31,58
	M5	18,21 ± 4,04	58,46 ± 18,98	23,33 ± 19,31
	M6	1,92 ± 3,95	64,87 ± 14,79	33,21 ± 16,20
FCL1	M1	2,03 ± 1,80	64,38 ± 16,26	33,59 ± 16,04
	M2	15,53 ± 4,14	65,20 ± 8,93	19,27 ± 10,34
	M3	0,76 ± 0,72	64,98 ± 19,12	34,27 ± 18,42
	M4	0,58 ± 1,03	65,66 ± 20,56	33,75 ± 19,63
	M5	30,97 ± 13,97	46,46 ± 7,92	22,57 ± 9,55
	M6	4,29 ± 6,03	63,87 ± 7,01	31,94 ± 12,15
FCL2	M1	1,20 ± 1,37	59,21 ± 9,46	39,59 ± 9,29
	M2	13,46 ± 3,13	52,47 ± 1,86	34,08 ± 3,69
	M3	0,44 ± 0,41	48,82 ± 16,59	50,74 ± 16,75
	M4	0,45 ± 0,68	47,95 ± 19,74	51,59 ± 20,06
	M5	14,88 ± 6,08	59,60 ± 3,84	25,52 ± 2,68
	M6	0,63 ± 0,83	70,83 ± 10,91	28,54 ± 10,77

Tab. 9b:

Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertung (M-Methode).

Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Gewebezusammensetzung aus alter und neuer Knochenmatrix und fibrösem Gewebe. Die Summen der Positionen 1 bis 3 stellt die mediale Hälfte, die Summe der Positionen 4 bis 6 die laterale Hälfte dar.

Gruppe	Position	alte Knochenmatrix	neue Knochenmatrix	fibröses Gewebe
LP	medial	10,45 ± 4,50	127,63 ± 60,11	161,92 ± 58,45
	lateral	20,46 ± 7,65	175,07 ± 52,45	104,48 ± 55,57
FCL1	medial	18,31 ± 5,96	194,56 ± 30,85	87,13 ± 31,72
	lateral	35,75 ± 19,08	175,99 ± 13,85	88,26 ± 30,67
FCL2	medial	15,09 ± 3,41	160,50 ± 17,68	124,40 ± 16,85
	lateral	15,96 ± 7,16	178,38 ± 26,41	105,66 ± 28,25

Bei der Auswertung von Feld 1 zeigte sich, dass der geringe prozentuale Anteil an alter Knochenstruktur bei allen Gruppen annähernd gleich war ($p = 1$). Neue Knochenmatrix wurde am wenigsten bei der LP-Gruppe festgestellt. Es bestand ein Unterschied zu den FCL-Gruppen, wobei dieser zur FCL1-Gruppe ($p = 0,233$) und zur FCL2-Gruppe ($p = 0,367$) jeweils nicht signifikant war. Der Abstand zwischen den FCL-Gruppen war gering ($p = 1$). Ebenso verhielt es sich mit dem Anteil an fibrösem Gewebe der FCL-Gruppen ($p = 1$). Das meiste fibröse Gewebe wurde in der LP-Gruppe nachgewiesen, wobei auch hier der Unterschied zur FCL1-Gruppe ($p = 0,184$) und zur FCL2-Gruppe ($p = 0,41$) nicht signifikant war.

Im Feld 2, welches den Frakturspalt an der Cis-Kortex darstellt, zeigte sich, dass der prozentuale Anteil an alter Knochenmatrix in der LP-Gruppe am kleinsten war. Im Vergleich zur FCL1-Gruppe ($p = 0,009$) und zur FCL2-Gruppe ($p = 0,04$) konnte ein deutlich signifikanter Unterschied beobachtet werden. Der Unterschied zwischen den FCL-Gruppen war klein und somit nicht signifikant ($p = 0,868$). Neue Knochenmatrix wurde am meisten in der FCL1-Gruppe beobachtet, der Abstand zum nächst kleineren Anteil der FCL2-Gruppe war nicht signifikant ($p = 0,626$). Es bestand ein Unterschied zwischen der FCL1-Gruppe und der LP-Gruppe, dieser war jedoch nicht signifikant ($p = 0,273$). Die Werte der FCL2-Gruppe und der LP-Gruppe waren annähernd gleich gross ($p = 1$). Den geringsten Anteil an fibrösem Gewebe wies die FCL1-Gruppe auf, wobei ein tendenzieller Unterschied zur Gruppe mit dem grössten Wert (LP-Gruppe, $p = 0,068$) beobachtet werden konnte. Der Unterschied zu der FCL2-Gruppe war nicht signifikant ($p = 0,425$), ebenso wie die Differenz zwischen der LP- und der FCL2-Gruppe ($p = 0,827$).

Im Feld 3 wurde für alle Gruppen weniger als 1% alte Knochenmatrix nachgewiesen. Davon hatte die FCL1-Gruppe den grössten Anteil, der sich aber nicht signifikant von den Werten der anderen Gruppen unterschied ($p_{LP} = 0,51$, $p_{FCL2} = 0,99$). Der grösste Anteil an neuer Knochenmatrix wurde in der FCL1-Gruppe gefunden, der sich ebenfalls nicht signifikant vom Wert der FCL2-Gruppe unterschied ($p = 0,786$). Den geringsten Anteil wies die LP-Gruppe auf, wobei auch die Differenzen zur FCL1-Gruppe ($p = 0,223$) und zur FCL2-Gruppe ($p = 1$) nicht signifikant waren. Umgekehrt verhielt sich die Verteilung von fibrösem Gewebe. Die LP-Gruppe hatte den grössten Wert, gefolgt von FCL2 ($p = 1$) und FCL1 ($p = 0,205$).

Auch im Feld 4 lag der Wert der alten Knochenmatrix jeweils unter 1%, die Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant ($p = 1$). Den grössten Wert für neue Knochenmatrix hatte die FCL1-Gruppe, welcher sich aber nicht signifikant vom nächst kleineren Wert der LP-Gruppe ($p = 0,878$) und dem der FCL2-Gruppe ($p = 1$) unterschied. Auch die Differenz zwischen den Gruppen FCL2 und LP war nicht signifikant ($p = 1$). Den grössten Anteil an fibrösem Gewebe wies die FCL2-Gruppe auf, der Unterschied zu der Gruppe mit dem geringsten Anteil (FCL1) war nicht signifikant ($p = 0,869$). Ebenso konnten im Vergleich der LP-Gruppe zu beiden FCL-Gruppen keine Signifikanzen festgestellt werden ($p = 1$).

Bei der Auswertung vom Feld 5, welches den Frakturspalt an der Trans-Kortex darstellt, fiel im Bezug auf den alten Knochen eine deutliche Signifikanz zwischen der

FCL1- und der FCL2-Gruppe auf. Der Wert der FCL1-Gruppe war doppelt (2,1fach) so gross wie der Wert der FCL2-Gruppe ($p = 0,026$). Der Wert der LP-Gruppe lag zwischen den Werten der FCL-Gruppen. Es konnte ein tendenzieller Unterschied zur FCL1-Gruppe festgestellt werden ($p = 0,089$). Die Differenz zwischen der LP- und der FCL2-Gruppe war nicht signifikant ($p = 1$). Neue Knochenmatrix wurde am meisten in der FCL2-Gruppe nachgewiesen. Der kleine Abstand zur LP-Gruppe war nicht signifikant ($p = 1$). Die FCL1-Gruppe hatte den geringsten Anteil neuer Knochenmatrix. Im Vergleich zur LP-Gruppe ($p = 0,491$) und zur FCL2-Gruppe ($p = 0,390$) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die Werte des fibrösen Gewebes waren für alle Gruppen etwa im gleichen Bereich ($p = 1$), wobei der Wert der FCL2-Gruppe vor denen der LP- und der FCL1-Gruppe lag.

Im Feld 6 konnte für die FCL1-Gruppe der grösste Anteil alter Knochenmatrix festgestellt werden. Die Abstände zum zweitgrössten Wert (LP-Gruppe, $p = 1$) und zum kleinsten Wert (FCL2-Gruppe, $p = 0,518$) waren nicht signifikant. Die Werte für neue Knochenmatrix waren in etwa gleich gross ($p = 1$). Der Wert der FCL2-Gruppe lag knapp über dem der LP-Gruppe und der FCL1-Gruppe. Ebenso verhielten sich die Werte des fibrösen Gewebes. Der Wert der LP-Gruppe lag knapp über dem der FCL1- und der FCL2-Gruppe, insgesamt waren aber alle Werte in etwa gleich gross ($p = 1$).

In allen Positionen konnte eine deutlich negative Korrelation zwischen fibrösem Gewebe und neu gebildeter Knochenmatrix nachgewiesen werden ($p = 0,000$ bzw. $p = 0,004$ in Position 5).

Durch die Addition der Resultate aus den Feldern 1, 2 und 3 sowie den Feldern 4, 5 und 6 ergaben sich für die mediale und laterale Hälfte folgende Beziehungen: Betrachtete man das alte Knochengewebe, so konnte in der LP-Gruppe ein signifikanter Unterschied ($p = 0,003$) zwischen dem kleineren medialen Anteil und dem grösseren lateralen Wert festgestellt werden. In der FCL1-Gruppe war der mediale Wert ebenfalls kleiner als der laterale, jedoch war der Unterschied nicht signifikant ($p = 0,092$). Die Werte der FCL2-Gruppe waren gleich gross ($p = 1$). Im Vergleich zwischen den Gruppen stellten sich deutliche, aber nicht signifikante Unterschiede zwischen den lateralen Werten der FCL1- und der FCL2-Gruppe heraus ($p = 0,052$). Ebenso deutlich war der Unterschied zwischen dem medialen Wert der LP-Gruppe zu dem grösseren der FCL1-Gruppe.

Für den neugebildeten Knochen konnte im Seitenvergleich der FCL2-Gruppe ein signifikanter Unterschied zwischen dem medialen, kleineren und dem lateralen,

grösseren Wert festgestellt werden. In den Gruppen LP und FCL1 konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden, wobei zu erwähnen ist, dass in der FCL1-Gruppe anders wie in der LP-Gruppe der mediale Anteil grösser war als der laterale. Im Vergleich zwischen den Gruppen erreichte die FCL1-Gruppe medial den höchsten Wert, dicht gefolgt von dem Wert der FCL2-Gruppe. Der laterale Wert der LP-Gruppe lag deutlich, aber nicht signifikant unter dem der FCL1-Gruppe. Zusammenfassend war im Bezug auf die neue Knochenmatrix erkennbar, dass sich die medialen Werte deutlich unterschieden, während sich die lateralen Werte alle auf einem gleichen Niveau befanden.

Ergänzend wurde in der LP-Gruppe medial deutlich mehr fibröses Bindegewebe gefunden als in allen anderen Positionen. Der Unterschied zu dem medialen Wert der FCL1-Gruppe war signifikant ($p = 0,041$). Der mediale und der laterale Wert der FCL1-Gruppe lagen auf gleichem Niveau. In der FCL2-Gruppe verhielt es sich umgekehrt zu den Verhältnissen der neugebildeten Knochenmatrix. Der grössere, mediale Anteil unterschied sich signifikant zu dem kleineren, lateralen Wert ($p = 0,032$).

4.5.2 Fluoreszenzschnitte

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Flächeninhalte können den Tabellen 10 und 11 entnommen werden. Weiterhin sind die Werte in den Diagrammen 20 und 21 im Anhang graphisch dargestellt. Die genauen Einzelwerte der Fluoreszenzauswertung sind in den Tabellen 20a bis e im Anhang ersichtlich.

Tab. 10:

Ergebnisse der Fluoreszenzauswertung.

Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Knochenaktivität in den Fluoreszenzschnitten in jeweils 9 Positionen.

Gruppe	Position	4 Wochen post OP	7 Wochen post OP
LP	P1	5,74 ± 5,33	20,34 ± 14,67
	P2	16,92 ± 20,04	31,43 ± 24,44
	P3	29,70 ± 31,44	39,68 ± 40,14
	P4	19,94 ± 17,26	48,72 ± 27,22
	P5	36,18 ± 18,95	53,35 ± 12,09
	P6	15,06 ± 11,23	13,80 ± 15,22
	P7	3,41 ± 4,10	0,42 ± 0,21
	P8	1,99 ± 2,88	3,61 ± 5,46
	P9	34,31 ± 13,03	20,88 ± 17,66
FCL1	P1	4,47 ± 5,33	30,74 ± 9,66
	P2	16,65 ± 17,21	54,42 ± 13,17
	P3	26,51 ± 31,84	71,66 ± 17,78
	P4	15,12 ± 14,93	39,20 ± 14,04
	P5	24,20 ± 11,01	58,33 ± 16,22
	P6	22,18 ± 18,06	23,53 ± 15,10
	P7	6,24 ± 4,62	10,45 ± 13,31
	P8	19,48 ± 8,45	14,72 ± 7,05
	P9	29,95 ± 27,11	35,03 ± 34,37
FCL2	P1	11,41 ± 11,84	18,82 ± 13,18
	P2	15,86 ± 11,07	22,50 ± 15,79
	P3	22,53 ± 20,08	17,78 ± 24,78
	P4	28,72 ± 18,29	24,24 ± 10,70
	P5	32,46 ± 15,97	40,40 ± 10,33
	P6	16,24 ± 10,33	3,45 ± 3,79
	P7	7,22 ± 7,27	2,21 ± 2,22
	P8	8,78 ± 8,43	2,03 ± 1,74
	P9	24,09 ± 13,34	5,28 ± 1,70

Tab. 11:

Ergebnisse der Fluoreszenzauswertung.

Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Knochenaktivität.

Die Werte für die Cis-Kortex ergeben sich aus der jeweiligen Summe aus den Positionen 1 und 2, die Werte für die Trans-Kortex ergeben sich aus der jeweiligen Summe aus den Positionen 4 und 5.

Gruppe	Position	4 Wochen post OP	7 Wochen post OP
LP	Cis-Kortex	22,66 ± 24,89	51,77 ± 35,30
	Trans-Kortex	56,12 ± 23,02	102,07 ± 35,88
FCL1	Cis-Kortex	21,12 ± 15,40	85,15 ± 17,84
	Trans-Kortex	39,32 ± 24,11	97,53 ± 27,21
FCL2	Cis-Kortex	27,27 ± 21,49	41,32 ± 24,69
	Trans-Kortex	61,18 ± 33,52	64,56 ± 20,17
LP	Summe	151,82 ± 59,79	211,35 ± 89,44
FCL1	Summe	144,96 ± 79,85	299,37 ± 23,51
FCL2	Summe	160,44 ± 98,11	129,85 ± 61,87

In den Positionen 1 und 2 waren alle 4-Wochen-Werte kleiner als die 7-Wochen-Werte. Der Unterschied in den Gruppen LP und FCL1 war signifikant in Position 1 ($p_{LP} = 0,013$, $p_{FCL1} = 0,003$) und deutlich, aber nicht mehr signifikant in Position 2 ($p_{LP} = 0,063$, $p_{FCL1} = 0,079$). In den Positionen 3 und 4 konnte für die FCL1-Gruppe jeweils ein signifikanter Unterschied ($p_3 = 0,016$, $p_4 = 0,03$) ermittelt werden. Die Abstände in der LP-Gruppe waren gross, jedoch nur in Position 4 bestand eine Signifikanz ($p = 0,006$). Die Resultate der FCL2-Gruppe waren annähernd gleich, wobei festgestellt wurde, dass die 7-Wochen-Werte hier kleiner waren als die 4-Wochen-Werte. In Position 5 waren alle 7-Wochen-Werte grösser als die 4-Wochen-Werte, hier wurde ein signifikanter Unterschied in der FCL1-Gruppe ($p = 0,003$) ermittelt. In Position 6, 7 und 8 gab es keine signifikanten Unterschiede, wobei für die FCL2-Gruppe ein durchgehend deutlich höherer 4-Wochen-Wert festgestellt wurde. In Position 9 war dieser Unterschied dann signifikant ($p = 0,017$). Tendenziell waren die Werte der FCL1-Gruppe über alle 9 Positionen höher als die der beiden anderen Gruppen. So wurde in

den Positionen 3 und 8 ein signifikant höherer 7-Wochen-Wert für die FCL1-Gruppe im Vergleich zur FCL2-Gruppe ermittelt ($p_3 = 0,05$, $p_8 = 0,013$). Ebenfalls in Position 8 waren die Unterschiede zwischen den Werten der FCL1-Gruppe und der LP-Gruppe für beide Zeiträume signifikant ($p_{4\text{Wochen}} = 0,009$, $p_{7\text{Wochen}} = 0,024$).

Durch die Addition der Werte aus Position 1 und 2 konnten die Verhältnisse an der Cis-Kortex dargestellt werden. Die Summe der Resultate aus den Positionen 4 und 5 war massgeblich für die Verhältnisse an der Trans-Kortex. Innerhalb der Gruppen ergaben sich in den Gruppen LP und FCL1 jeweils signifikante Unterschiede zwischen den 4- und 7-Wochen-Ergebnissen beider Kortizes (LP: $p_{\text{Cis}} = 0,016$, $p_{\text{Trans}} = 0,021$, FCL1: $p_{\text{Cis}} = 0,027$, $p_{\text{Trans}} = 0,007$). Im Seitenvergleich konnten in diesen beiden Gruppen deutliche, aber nicht signifikante Unterschiede erhoben werden. In der FCL2-Gruppe waren die Werte beider Seiten bzw. Kortizes signifikant unterschiedlich, wobei an der Trans-Kortex jeweils mehr aktiver Knochen detektiert werden konnte als an der Cis-Kortex ($p_{4\text{-Wochen}} = 0,003$, $p_{7\text{-Wochen}} = 0,036$). Im zeitlichen Vergleich wurde für diese Gruppe nach 7 Wochen deutlich, aber nicht signifikant mehr aktiver Knochen gefunden als nach 4 Wochen.

Durch die Gesamtsumme aus den Werten aller 9 Positionen wurde deutlich, dass die Resultate in Woche 4 post operationem annähernd auf dem gleichen Niveau lagen ($p = 1$). In Woche 7 ergaben sich deutliche Unterschiede. Der Wert der FCL2-Gruppe war signifikant kleiner als der der FCL1-Gruppe ($p = 0,006$). Die Summe der LP-Gruppe lag ohne signifikanten Unterschied zwischen den beiden anderen Ergebnissen. Auch innerhalb der jeweiligen Gruppen ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den 4-Wochen-Resultaten und den grösseren 7-Wochen-Resultaten für die LP- und die FCL1-Gruppe ($p_{\text{LP}} = 0,04$, $p_{\text{FCL1}} = 0,03$). Der 7-Wochen-Wert der FCL2-Gruppe war dagegen kleiner als der 4-Wochen-Wert, jedoch nicht signifikant.

Ergänzend wurde mit den multivariaten Analysemethoden (Pillai-Spur) festgestellt, dass für die Positionen 1 bis 5 der Faktor Zeit einen signifikanten Einfluss auf die Aktivität der Knochenmatrix hatte ($p = 0,000$ bzw. $0,004$). Tendenziell wurde nach 7 Wochen post operationem mehr aktiver Knochen detektiert als 4 Wochen post operationem. In Position 9 waren die Verhältnisse umgekehrt. Die Zeit hatte ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf die Knochenaktivität, jedoch wurden in der 4. Woche tendenziell grössere Werte festgestellt als in der 7. Woche.

5 Diskussion

5.1 Ziel der Studie

Ziel dieser Studie war es zu zeigen, dass die Knochenheilung von Frakturen langer Röhrenknochen durch ein verändertes Schraubendesign winkelstabiler Implantate positiv beeinflusst werden kann. Die spezielle Form der FCL-Schrauben sollte die mechanische Dynamisierung an der Cis-Kortex bewirken und so durch eine Modulation der IFB die biologische Stimulation der Knochenbruchheilung verbessern. Folglich war weiterhin zu klären, ob unter diesen veränderten Bedingungen die Kallusbildung gleichmässig, d.h. auch an der plattennahen Kortex (Cis) stattfindet und so der Frakturspalt effizienter durchbaut wird als unter LP-Plattensystemen. Durch die Auswertung radiologischer und histomorphometrischer Untersuchungsmethoden konnte gezeigt werden, dass der Kallus der FCL-Gruppen im Vergleich zu konventionellen Plattensystemen (LP-Gruppe) sowohl quantitativ als auch qualitativ besser war. Zudem wurde eine gleichmässige Verteilung von Kallus und Mineralgehalt in der Frakturregion festgestellt. Alle Kortizes der FCL-Gruppen waren vollständig überbrückt, während bei 3 von 6 Proben der LP-Gruppe eine unvollständige Durchbauung der Cis-Kortex auffiel. Die Knochen der FCL-Gruppen verheilten signifikant stärker und absorbierten eine bis zu mehr als 2,5fach höhere Bruchenergie als die Knochen der LP-Gruppe.

Durch die Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen war es möglich, einen zeitlich orientierten Blick auf die Wirkung der veränderten IFB zu erlangen.

5.2 Tiermodell

Um an neue Erkenntnisse über die verschiedenen Aspekte der Frakturheilung zu gelangen, wurde bereits eine Vielzahl von Tiermodellen in der Forschung verwendet⁵⁹. Welches Model sich am besten für die jeweilige Fragestellung eignet, wurde in zahlreichen Studien erörtert⁵⁹⁻⁶³. Schlussendlich sind sich die Autoren einig, dass sich das Schaf sehr gut zur Untersuchung von biomechanischen Bedingungen von Frakturen und deren Auswirkung auf die Knochenbruchheilung eignet. Grundvoraussetzungen von Versuchsmodellen für die humanmedizinische Forschung sind gewisse Ähnlichkeiten zum Menschen bezüglich Knochenaufbau, -stoffwechsel und -heilung. In dieser Studie wurde das Schaf als Versuchstier eingesetzt, da es u.a. wegen der relativ

hohen Position auf der phylogenetischen Skala diese Bedingungen erfüllt^{59,62}. Die anatomischen und biomechanischen Eigenschaften der Schafstibia weisen grosse Übereinstimmungen mit der des Menschen auf. Bezüglich der Knochenphysiologie gleichen Primaten dem Menschen etwas mehr, da sie im Gegensatz zum Schaf eine höhere Komponente der knöchernen Sekundärstrukturen aufweisen⁶². Jedoch wurde aus ethischen Gründen von der Verwendung dieser Spezies als Versuchstier Abstand genommen. Die Werte für Knochenheilungsrate und -umbildungsaktivität der Schafe liegen dahingegen in etwa auf gleichem Niveau wie die des Menschen. Zudem rechtfertigt die annähernde Übereinstimmung von Körpergrösse und -gewicht der Tiere zu denen des Menschen den Einsatz von Schafen für diesen Versuch. So war es möglich, klinisch repräsentative Implantatgrössen und Instrumente zu verwenden und eine dem Menschen ähnliche Belastung der Knochen und Implantate zu gewährleisten. Nunamaker et al. bestätigten ausserdem, dass Schafe im Gegensatz zu anderen möglichen Tierarten ihre behandelte Gliedmassen kaum entlasten und so eine für diesen Versuchsaufbau unabdingbare Vollbelastung sicherstellen⁵⁹. Nicht zuletzt sind ganz allgemeine Eigenschaften der Schafe als positiv im Hinblick auf Ihren Einsatz als Versuchstiere zu werten. Sie sind ruhige Tiere und leicht in der Handhabung, ihre artgerechte Haltung und Fütterung sind vergleichsweise einfach und kostengünstig. Bedingungen hinsichtlich des Tierschutzes⁶⁰ konnten mit diesem Versuchsaufbau gut erfüllt werden. Von der Verwendung kleiner Nager und Kaninchen musste wegen der unzureichenden Grösse und der damit fehlenden klinischen Vergleichbarkeit der Belastung Abstand genommen werden. Kleine Nager kommen zudem wegen ihrer primitiven Knochenstruktur ohne Haversches System nicht für diese Frakturheilungsstudie in Frage⁵⁹.

Da die Frakturheilung altersabhängig ist und bei juvenilen Individuen, die sich noch in der Wachstumsphase befinden, schneller und nachhaltiger abläuft⁵⁹, wurden für diese Studie ausschliesslich adulte Schafe verwendet. So konnten unvergleichbar gute Ergebnisse umgangen werden.

5.3 Aufbau der Studie

Das in dieser Studie verwendete Modell der 90°-Tibiaosteotomie mit 3 mm Spaltbreite hat sich zur Untersuchung der Frakturheilung in vielen vorhergehenden Versuchen bewährt^{2,14,19,26,64-66}. In Kombination mit biomechanischer Belastung stellt es eine

klinisch realistische Situation dar. Die Tibia beim Schaf repräsentiert als englumiger Röhrenknochen, der senkrecht belastet wird, die biomechanischen Verhältnisse der humanen Tibia sehr gut⁶⁷. Dumont et al. belegten, dass es keine nennenswerten Unterschiede in der Frakturheilung zwischen osteotomierten und manuell gebrochenen Knochen gibt und rechtfertigte damit die Osteotomie als durchaus klinisch repräsentative Technik⁶⁶. Dennoch ist eine 100%ige Übertragung auf klinische Gegebenheiten etwas vorsichtig einzustufen.

Die Wahl des Zeitraumes von 9 Wochen bis zur Schlachtung ergab sich aus den bekannten Heilungszeiten vieler hervorgegangener Studien. Ca. 7-8 Wochen nach Fixation ist der Höhepunkt der Kallusbildung und damit der maximalen Stabilität vor dem finalen Remodelling zu erwarten^{68,69}.

Die Anzahl der Schafe pro Gruppe war eher klein. Dennoch fielen die Unterschiede der Effekte der Konstrukt-Steifigkeit und IFB auf die Knochenheilung statistisch signifikant aus. Das Ziel der Studie konnte erreicht werden, sodass darauf verzichtet wurde, weitere Tiere in den Versuch mit einzubeziehen.

Durch das Konstruktdesign war die Steifigkeit des Systems eine feste Grösse. Die IFB war jedoch abhängig von der individuellen Belastungssituation der einzelnen Tiere, wobei bei der Aktivität der Schafe keine nennenswerten Unterschiede zu erkennen waren. Einzig das Schaf Nr. 4208 war trotz Restriktion bewegungsfreudiger als andere Schafe, womit sich für dieses Tier der erfolgte Implantatbruch erklären liesse.

Die verwendete Titaniumlegierung ist annähernd 2fach flexibler als Edelstahl⁷⁰. Es ist möglich, dass in der vorliegenden Studie die Reduktion der Kallusformation durch unzureichende IFB unter der Verwendung von Edelstahlimplantaten deutlicher ausgefallen wäre.

5.4 Operation und postoperative Phase

Die Wahl der Anästhesie, der Lagerung und schliesslich des chirurgischen Zugangs hat sich auch in dieser Studie bewährt. Es traten diesbezüglich keine Komplikationen auf.

Das Einbringen der FCL-Schrauben erforderte eine sehr präzise und erfahrungsabhängige Arbeitsweise der Chirurgen. Durch eine minimale Abweichung vom Bohrungswinkel kam es zu Verkantungen der Schraubenköpfe im Gewindeloch bei 5 von 19 Implantaten. Bei 2 dieser 5 Systeme kam es zum Implantatbruch. Da jeweils nur eine Schraube leicht verkantet aber dennoch so fest wie die anderen 5

Schrauben in die Platte eingebracht war, ist dies wahrscheinlich nicht der Grund für das Implantatversagen. Alle Schrauben konnten sicher verankert und somit die Winkelstabilität bei allen Implantaten gleichmässig gewährleistet werden. Dieser Verkantung kann auch durch ein leicht modifiziertes Schraubendesign und bzw. oder durch entsprechende Einführungsinstrumente entgegen gewirkt werden. Da das Augenmerk in dieser Studie vor allem auf der verbesserten Knochenbildung im Cis-Kortex lag, wurde diesem technischen Detail vorerst noch keine Priorität eingeräumt. Es wird aber in der zukünftigen Implantatherstellung entsprechend berücksichtigt werden. Die nach der Osteotomie aufgetretene Blutung aus der Arteria tibialis cranialis bei Schaf Nr. 4213 wurde sofort gestillt. Bei diesem Tier waren keine stark abweichenden Ergebnisse festzustellen. Die Heilung wurde im Vergleich zu den anderen Tieren durch die Blutung weder positiv noch negativ beeinflusst.

Bis 3 Wochen post operationem wurden die Tiere in einem speziellen Netz gehalten, welches sich in vielen vorangegangenen Studien bewährt hat^{60,71,72}. Die Schafe konnten sich in einem gewissen Radius frei bewegen, fressen, schlafen und normal Kot und Urin absetzen. Allerdings war es ihnen nicht möglich, sich ganz auf den Boden niederzulegen. So konnte in der Frühphase der Frakturheilung eine Überbelastung beim Aufstehen und vor allem ein Ausgleiten auf dem Stallboden der operierten Gliedmasse verhindert, aber dennoch eine normale Vollbelastung gewährleistet werden. Bis auf einige gut behandelbare Druck- und Scheuerstellen gab es keine Komplikationen. Das Wohlbefinden der Tiere wurde im Rahmen der vorliegenden Studie nur in vertretbaren Ausmassen beeinträchtigt⁶⁰.

Trotz fortwährend guter Belastung bei völlig ungestörtem Allgemeinbefinden wurde bei drei Tieren der FCL1-Gruppe (Nr. 4208, Nr. 4210 und Nr. 4213) jeweils beim ersten Verbandswechsel ein Bruch der Implantate (alle 3 proximalen Schrauben) festgestellt. 8 von 9 Schrauben brachen direkt am Übergang des Kopfgewindes zum Schraubenschaft, am Ort der maximalen Krafteinwirkung bei Belastung. Da sich infolgedessen das FCL-Konstrukt trotz eingehender und erfolgreicher in vitro Testungen⁵⁵ beim Schaf nicht bewährt hat, wurde das Design der Schrauben leicht modifiziert. Der Durchmesser des Schraubenschaftes wurde vergrössert und die Schraube damit stabiler. Das Prinzip der Dynamisierung der Cis-Kortex blieb dennoch erhalten. Es wurde eine zusätzliche Gruppe mit weiteren 6 Tieren operiert (FCL2-Gruppe). Hier traten keine Komplikationen auf, sodass dieses technische Problem gelöst werden konnte.

5.5 Probengewinnung und -aufbereitung

Die Anfertigung der postoperativen Röntgenbilder erfolgte weitestgehend ohne Schwierigkeiten am sitzenden Tier. Um verdauungsbedingtes Unwohlsein und damit verbundene Bewegungen der Schafe zu vermeiden, wurden diese für 2 - 3 Stunden vor der Untersuchung gefastet. Nach der Entfernung der Verbände konnten die Implantate stets gut durch die Haut getastet und somit dem geforderten Winkel entsprechend auf der Röntgenplatte gelagert werden.

Bei der Schlachtung der Tiere und der Gewinnung der Tibiae traten bis auf weiteres keine Komplikationen auf. Es wurde aus organisatorischen Gründen versäumt, die linke nicht operierte Tibia von 3 Schafen zu gewinnen. Die Gruppe der intakten Knochen bestand daher nur aus 13 Knochen, stellte aber insgesamt eine statistisch ausreichend grosse Menge dar. Ebenfalls wurde die Tibia des Schafes 4212 beim Auslösen am proximalen Ende beschädigt. Dennoch konnten alle Untersuchungen problemlos durchgeführt werden.

Die Entfernung der FCL1-Implantate stellte eine handwerkliche Herausforderung dar. Das Ausdrehen des Schraubengewindes durch die z.T. durchbaute Markhöhle und Cis-Kortex war nur unter Anstrengungen möglich. Die FCL2-Schrauben wurden daher mit rückschneidendem Gewinde versehen. Die Explantation dieser modifizierten Schraube erfolgte problemlos. Es ist festzuhalten, dass durch das Ausdrehen der Schraube durch die Cis-Kortex neu gebildeter Knochen verloren gegangen ist. Da dies bei allen Proben in gleichem Masse der Fall war und die Menge im Vergleich zur Grösse des Knochens sehr klein war, hatte dies keine nennenswerten Auswirkungen auf die quantitative Auswertung der Proben.

Die histologische Aufbereitung der Proben verlief durch die standardisierten und langjährig bewährten Methoden unseres Labors ohne Probleme. Allerdings bereitete das Festlegen der Schnittebene im 90°-Winkel zur Auflagefläche der Platte einige Schwierigkeiten. Da die Ein- und Austrittslöcher der Schrauben teilweise durch den Kallus und das optisch verzerrende MMA nicht immer eindeutig erkennbar waren, erfolgte das Einzeichnen der Schnittlinie subjektiv. An den gewonnenen Schnitten konnte allerdings festgestellt werden, dass die Ebenen weitestgehend übereinstimmten.

5.6 Untersuchungsmethoden und Probenauswertung

5.6.1 Radiologische Auswertung

5.6.1.1 Röntgenbilder

Die postoperativen Röntgenaufnahmen konnten stets in den drei geforderten Ebenen angefertigt werden und lieferten so eine vollständige Dokumentation des Heilungsverlaufes aller Tiere. In den abgebildeten Ebenen konnte der periostal gebildete Kallus anterior, posterior und lateral quantifiziert werden. Die Darstellung des medialen Kallus war wegen der Überlagerung durch das Implantat nicht möglich. Ebenso konnte mit Hilfe der Röntgenbilder keine Aussage über den endostal gebildeten Kallus gemacht werden, da dieser stets von den Kortizes überlagert wurde. Die Auswertung der Röntgenbilder erfolgte mittels einer speziell entwickelten und bereits validierten Software^{5,58}. So wurde eine präzise und objektive Auswertung gewährleistet. Einige wenige Röntgenaufnahmen mussten korrigiert werden und wurden zum Wohle des Tieres mit dem vorerst neu angebrachten Castverband nochmals angefertigt. So entstanden geringgradige Überlagerungen der knöchernen Strukturen mit dem leicht röntgendichten Castmaterial. Da diese Überlagerungen aber flächendeckend gleichmässig waren und es die Software ermöglichte, die Dichte des Kallusgewebes in Relation zu der Dichte der Kortex zu setzen, konnte auch in diesen wenigen Aufnahmen eine aussagekräftige Auswertung erfolgen.

Die Kallusflächeninhalte der LP-Gruppe lagen bis auf eine Ausnahme und meistens sehr deutlich unter den Werten der beiden FCL-Gruppen. In den lateralen Ebenen wurden annähernd parallele Kurvenverläufe deutlich, was den ähnlichen mechanischen Bedingungen an der Trans-Kortex zuzuschreiben sein sollte. Aus den anterior und posterior gemessenen Kallusgrössen resultierten divergierende Kurvenverläufe. Das heisst, dass die Werte der Kallusflächeninhalte der FCL-Gruppen steiler angestiegen waren als die der LP-Gruppe. Eine mögliche Ursache könnte in der durch das modifizierte Implantat veränderten mechanischen Situation zu finden sein. Obwohl die mediale, also die Cis-Kortex selbst nicht abgebildet und ausgewertet werden konnte, liegt das seitlich der Platte gebildete Kallusgewebe in unmittelbarer Nähe zum Cis-Kortex und widerspiegelt so die Auswirkungen der dortigen erhöhten IFB. Dort könnte es also zu einer erhöhten und zeitlich früheren Kallusstimulation gekommen sein. Bekräftigt wird diese Vermutung durch die Tatsache, dass die Werte der FCL1-Gruppe aus den anterioren und posterioren Auswertungen tendenziell immer grösser waren als

die Werte der FCL2-Gruppe. Da das Implantatdesign der FCL1-Gruppe mehr IFB ermöglichte, ist wahrscheinlich davon auszugehen, dass dadurch mehr Kallus induziert worden ist. Die maximalen Werte der Kallusflächeninhalte wurden durchschnittlich in der 7. Woche post operationem erhoben. In den folgenden 2 Wochen wurde tendenziell weniger Kallus quantifiziert. Es ist zu vermuten, dass nach 7 Wochen eine ausreichende Stabilität erreicht wurde und die Frakturheilungsphase v.a. durch Remodellierungsvorgänge bestimmt wurde. Im Überschuss gebildetes Knochengewebe wurde zurückgebildet und die gemessenen Flächeninhalte wurden kleiner. Etwas anders verhielt es sich im Einzelnen mit den Resultaten der FCL1-Gruppe. In der anterioren Projektion wurde der maximale Flächeninhalt auch in der 6. und 7. Woche post operationem gemessen. Danach kam es ebenso zu einem Abfall der Werte, die jedoch in der 9. Woche post operationem wieder deutlich anstiegen. Eine mögliche Ursache für diese Schwankungen könnte sein, dass durch den Ausfall von 3 Tieren aus dieser Gruppe nur eine statistisch ungenügende kleine Gesamtmenge von 4 Schafen vorhanden war und so generell die Ergebnisse dieser Gruppe nur unter Vorbehalt zu bewerten sind. Allerdings waren die Standardabweichungen nicht viel grösser als in den anderen Gruppen, was für eine ähnliche Verteilung spricht und durchaus einen direkten Vergleich zulässt. Ein zusätzlicher Grund für den weiteren Anstieg der Werte könnte in der Tatsache zu finden sein, dass durch eine zu grosse IFB zwar viel Kallus gebildet wird, dieser aber nicht fähig ist, die Fraktur zu stabilisieren. So bleibt die IFB erhalten und induziert weiter die Bildung von neuem Knochengewebe, welches zudem meist schlecht mineralisiert und damit von geringerer Qualität ist. Diese Theorie wird allerdings durch die durchweg guten Ergebnisse der FCL1-Gruppe aus den mechanischen und computertomographischen Auswertungen entkräftet.

5.6.1.2 Vergleich der Mikroradiographien

Durch die fast eindeutige Übereinstimmung der röntgendichten Knochenmatrix der Mikroradiographien zu den blau angefärbten Strukturen der Dickschnitte kann davon ausgegangen werden, dass die Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertungen durchaus realistisch sind.

5.6.1.3 CT-Auswertung

Mit der computertomographischen Untersuchung der Proben konnten räumliche und inhaltliche Fragestellungen geklärt werden. Die Verteilung der Gruppenergebnisse für das Kallusvolumen, den Knochenmineralgehalt und die grösste Querschnittsfläche sind sich sehr ähnlich. Die LP-Gruppe erreichte die jeweils kleinsten Werte, die sich signifikant von denen der FCL-Gruppen unterschieden. Die FCL2 erreichte stets den mittleren Platz und die FCL1-Gruppe schnitt in allen drei Grössen immer am besten ab. Hier lässt sich eine eindeutige Verbindung zwischen der IFB und den jeweiligen Grössen erkennen. Das konventionelle LP-Implantat ermöglicht die geringste IFB, gefolgt von dem FCL2-Implantat. Das FCL1-Implantat lässt im Vergleich dazu eine noch grössere Bewegung im Frakturspalt zu. Durch eine erhöhte IFB scheint auch in diesem Versuch die Kallusbildung angeregt zu werden. Die Knochenmineraldichten wurden aus den jeweiligen Volumina und dem Mineralgehalten berechnet und belegen, dass in der FCL1-Gruppe zwar viel Kallus gebildet wurde, dieser aber weniger gut mineralisiert war. Zur FCL2-Gruppe bestand diesbezüglich ein signifikanter Unterschied. Dagegen bestand kein signifikanter Unterschied zur LP-Gruppe. Der Seitenvergleich von Volumen und Mineralgehalt bestätigte die bereits durch die radiologische Auswertung vermutete Verteilung. Der signifikante Unterschied zwischen medial und lateral erfassten Kallusvolumen der LP-Gruppe weist darauf hin, dass die unter den LP-Implantaten deutlich geringere IFB die Kallusbildung nicht in vergleichbarem Ausmasse stimuliert. Dies wurde ebenso deutlich im Vergleich der lateralen Hälfte der LP-Gruppe mit den medialen Hälften der FCL-Gruppen, wobei signifikante Unterschiede errechnet werden konnten. Die medialen und lateralen Volumina bzw. Mineralgehalte der FCL-Gruppen waren gleichmässig verteilt, was auf eine gleichmässige, parallele IFB zurückgeführt werden könnte. Besonders deutlich wird diese These durch die Ergebnisse der FCL2-Gruppe unterstützt. Die Knochenmineraldichte war innerhalb der 3 Gruppen relativ gleich verteilt. Der Unterschied in der LP-Gruppe war aber dennoch am grössten. Der signifikante Unterschied der Mineraldichte der medialen Hälfte der FCL2-Gruppe zu denen der LP- und der FCL1-Gruppe ergibt sich wahrscheinlich ebenfalls aus der positiven Wirkung einer moderaten IFB auf die Frakturheilung. Durch die moderate IFB erfolgt der Übergang aus der Proliferationsphase in die Remodellierungsphase schneller und effektiver. Gut stabilisierender Kallus wurde früher und im Laufe der Zeit auch besser mineralisiert. Zu wenig IFB bedingt ebenso eine schlechtere Mineralisierung wie zu

viel. Ergänzend ist zu bemerken, dass die positive und hochsignifikante Korrelation zwischen Kallusvolumen und maximaler Querschnittsfläche im Frakturspalt belegt, dass sich das neugebildete Knochengewebe v.a. im Bereich um die Fraktur befindet und der Kallusanteil in der Peripherie keinen nennenswerten Anteil am Volumen hat.

5.6.2 Auswertung der mechanischen Testungen

Um die Ergebnisse der mechanischen Testungen deuten zu können, sollen hier einige biomechanische Grundlagen kurz und vereinfacht erläutert werden. Bei der Belastung eines Gewebes bewirken Kräfte [N] oder Drehmomente [Nm] eine Verformung [mm oder Grad] (Verschiebung oder Rotation) und die daraus resultierende innere mechanische Spannung bzw. der äussere Druck [N/mm^2]⁷³. Die mechanische Spannung im Material *Knochen* hängt also von der Grösse und Form der Belastung, der Knochenform und -geometrie (und damit von der Fläche, auf die die Kräfte wirken) sowie den Materialeigenschaften ab. Ob ein Material fest oder weich bzw. steif oder nachgiebig ist, wird durch das jeweilige Elastizitätsmodul [N/mm^2] (Steifigkeit, Young's Modul) ausgedrückt. Bei einer bestimmten Spannung [N/mm^2] erfährt der Knochen eine gewisse Dehnung [mm/mm]. In einem typischen Spannungs-Dehnungs-Diagramm wird deutlich, dass unter geringen initialen und wieder unter höheren Spannungen eine exponentielle Dehnung des Knochens erfolgt. Dazwischen gibt es einen linearen Zusammenhang zwischen Spannung und Dehnung. Der Anstieg dieses Bereiches beschreibt die Steifigkeit des Knochens. In dieser elastischen Phase ist die Verformung noch reversibel, allerdings verhält sich der Knochen aufgrund seiner Inhomogenität und Anisotropie nicht rein elastisch. Sistiert die einwirkende Kraft, nimmt der Knochen seine vorherige Form erst mit einiger Verzögerung wieder ein. Die Verschiebungen der flüssigen Bestandteile und die Verformung der kollagenen Fasern „hinkt“ dem Kraftabfall hinterher, die Entlastungskurve liegt unter der Belastungskurve (Hysterese). Da sich nach wenigen gleichförmigen Belastungszyklen derselben Frequenz ein Fließgleichgewicht einstellt und die Hysterese konstant verläuft, sind bei biomechanischen Testungen 3-4 Belastungszyklen üblich, sodass der ideale lineare Bereich der Belastungskurve und somit die Steifigkeit bestimmt werden kann. Auch in dieser Studie wurde so verfahren, die Ergebnisse waren somit reproduzierbar. Jedoch sollte erwähnt sein, dass nur wenige Belastungszyklen zu einem Gleichgewicht führen und dagegen mehrere Zyklen zur Ermüdung des Gewebes und folglich zum Versagen

führen können (Ermüdungsbruch). Steigt die Belastung jedoch weiter an, wird die Elastizitätsgrenze überschritten und die Belastungskurve geht in die plastische Phase über. Die bis hierhin erfolgte Verformung ist nicht mehr reversibel. Nach dem Erreichen der maximalen Belastung bricht der Knochen. Die Festigkeit eines Gewebes wird als die maximal ertragbare Last ausgedrückt und ist nicht mit dem Begriff der Steifigkeit zu verwechseln. Der Einfluss der Hebelarmlänge und der Knochenform bzw. -geometrie ist in diesem Versuchsaufbau nur bedingt relevant. Durch die exakte Vorgehensweise bei der Einbettung der Knochenproben in die Aluminiumformen konnte für jede Probe die gleiche Ausrichtung und freie Knochenlänge gewährleistet werden. Dennoch kann nicht von ideal gleichen Bedingungen ausgegangen werden, da durch die Kallusformation unterschiedliche Querschnittsflächen der Krafteinwirkung gegenüber standen. Die Resultate sind also nicht nur auf das Material *Knochen* sondern auf das ganze Organ *Knochen* zu beziehen und als Ergebnisse aus dem Zusammenspiel von Geometrie und Materialeigenschaften zu interpretieren. Dies ist aber sinnvoll, da auch nur das ganze Organ *Knochen* den äusseren Kräften vor, während und nach der Frakturheilung standhalten muss bzw. sollte.

Neben den Finite-Elemente-Modellen und anderen Methoden, wie z.B. der optischen Metrologie⁷⁴, sind mechanische Testverfahren seit langer Zeit das Mittel der Wahl, um Aussagen über die mechanischen Eigenschaften, die Qualität und gegenwärtige sowie auch zukünftige Belastungsgrenzen von Knochen, Knochendefekten und in Heilung befindlicher Frakturen machen zu können⁷⁵. Mechanische Testungen werden sowohl am künstlichen Knochenphantom und am Kadaverknochen (in vitro) als auch am lebenden Organismus (Versuchstier oder Patient, in vivo) durchgeführt. Biege-Messungen sind dabei die häufigsten Verfahren⁷⁶. Die 4-Punkt-Biegung hat gegenüber der 3-Punkt-Biegung den Vorteil, dass das Biegemoment gleichmässig über die freie Knochenlänge verteilt ist, alle Spannungen axial ausgerichtet sind und somit keine zusätzlichen Scherkräfte auftreten, die in der Steifigkeitsberechnung mit einkalkuliert werden müssen^{73,75}.

Die Durchführung von Torsionstests ist eine ebenso geläufige Methode^{14,22,51,75,77}. Auf Kompressionstests wurde verzichtet, da durch die in sich geschwungene Tibia des Schafes bei einer axialen Belastung auch in hohem Masse Zug- und Scherkräfte aufgetreten wären. Eine sichere Aussage über axiale Steifigkeit hätte nicht getroffen werden können. Zudem konnte so eine frühzeitige Vorschädigung des Knochens vermieden werden.

Aus klinischer Sicht haben jedoch einzelne biomechanische Testergebnisse in der Regel eine nachrangige Bedeutung, auch wenn sie deutliche Hinweise geben. Die Wechselwirkungen des Knochens mit seinen umgebenden Strukturen sind letztendlich sehr komplex. Es ist bis heute schwer möglich, die genauen biomechanischen Verhältnisse zu erklären und vorauszusagen⁷⁵.

5.6.2.1 Biegesteifigkeit

Die Biegesteifigkeit stellt vereinfacht den Quotienten aus Biegemoment und Durchbiegung dar. Bedingt durch die feste Implantat- und die individuelle Tibiaform konnte die Osteotomie nicht immer an der gleichen Stelle platziert werden. Dennoch wurde durch die Versuchsanordnung der 4-Punkt-Biegung gewährleistet, dass am und im Frakturspalt stets gut vergleichbare Kräfte wirkten. Als nachteilig anzusehen ist, dass die Kraftpunkte simultan auf den Knochen auftreffen sollten, um eine regelgerechte Belastung zu gewährleisten. Durch die natürlich geschwungene Form der Probe war dies nicht immer 100% möglich, dennoch konnte durch das Unterlegen von unterschiedlich dicken Aluminiumblöcken der Höhenunterschied und damit das Auftreffen der Kontaktpunkte ausgeglichen werden. Da alle Knochen in etwa die gleiche Grösse, Form und durch präzises Einbetten auch immer die gleiche Ausrichtung hatten, ist anzunehmen, dass der dadurch entstandene Fehler ebenso gleichwertig war.

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, wobei die LP-Gruppe nie den besten Wert erreichte. Im Vergleich zu den intakten Knochen war nur die LP-Gruppe signifikant schlechter in den Ebenen A und L. Hier lässt sich zumindest die Tendenz erkennen, dass das LP-Konstrukt eine geringere oder maximal gleichwertige Heilung ermöglicht. Eine mögliche Ursache für die Unterschiede in den Ebenen A und v.a. L könnte in der asymmetrischen Kallusverteilung liegen. Bei der Messung der Ebene L wirkten auf der lateralen Seite Zug- und auf der medialen Seite Kompressionskräfte auf den Frakturspalt. Ein intakter Knochen ist stärker gegenüber Kompressionskräften als gegenüber Zugkräften^{73,75,78}, aber durch den wenig und minderwertig gebildeten Kallus an der Cis-Kortex der LP-Proben können die dort wirkenden Kompressionskräfte eine deutlichere Verformung bewirken und so zu geringeren Steifigkeitswerten führen. In den Ebenen P und v.a. M sind die Auswirkungen der Kompressionskräfte auf die Trans-Kortex eher gleich, da hier die Kallusverteilung und Qualität unter den Gruppen ebenfalls nur geringgradig

unterschiedlich sind. Weiterhin lassen die hohen Standardabweichungen aufgrund der kleinen Gruppengrösse nur eine vorsichtige Beurteilung der Resultate zu.

5.6.2.2 Torsionssteifigkeit

Die Torsionssteifigkeit wird vereinfacht aus dem Verhältnis zwischen Torsionsmoment und Rotation bestimmt und stellt nach der Biegesteifigkeit einen wichtigen und klinisch relevanten Parameter zur Knochenbelastbarkeitsbeurteilung dar⁷⁹. Auch hier ergaben sich allerdings keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, dennoch zeigte sich eine klare Tendenz. Mit steigender Kallusqualität und –quantität zwischen den 3 Gruppen konnte auch ein Anstieg der Torsionssteifigkeit beobachtet werden. Die FCL1-Gruppe wies sogar eine höhere Torsionssteifigkeit als die intakten Knochen auf, was wahrscheinlich der vergrößerten Querschnittsfläche durch die Kallusformation zuzurechnen ist.

5.6.2.3 Maximales Drehmoment

Das Drehmoment stellt eine Grösse der Kraft dar, die eine Rotation (Drehbewegung) oder eine Torsion (Verdrehung/Verformung) erzeugt. Das maximale Drehmoment ist hier also die höchste Kraft, die eine Torsion des Knochens bewirken kann, bis er versagt bzw. bricht. Auch hier gilt wieder, dass der Parameter von der Länge, Form und damit Querschnittsfläche sowie von der Knochenqualität selbst abhängig ist⁷³. Im Vergleich zwischen den Gruppen schnitt auch hier die LP-Gruppe deutlich schlechter ab als die FCL-Gruppen. Der signifikante Unterschied kann in Anlehnung an die Ergebnisse aus der CT- und Histomorphometrieauswertung sowohl dem grösseren Kallusvolumen und der damit verbundenen grösseren Querschnittsfläche als auch der besseren Knochenminerkonzentration zugerechnet werden. Dies wird durch die positiven und signifikanten bzw. hochsignifikanten Korrelationen bekräftigt. Auch im Vergleich mit den intakten Knochen war einzig die LP-Gruppe signifikant schlechter.

Hiermit bestätigte sich im Einzelnen wiederum die Vermutung, dass die FCL-Konstrukte eine bessere Heilung hervorrufen als die LP-Konstrukte.

5.6.2.4 Bruchmuster

Im Hinblick auf das bereits erwähnte Bruchmuster nach maximalem Drehmoment in Abhängigkeit der Frakturheilungsqualität lassen sich hier Übereinstimmungen erkennen²⁹. Sowohl durch die Adspektion der Knochen direkt nach der Testung als auch auf den Histologieschnitten liessen sich die Bruchlinien gut nachvollziehen. Nur die Hälfte der LP-Proben erreichte die Frakturheilungsstufe 3, im Mittel lag die LP-Gruppe bei 2,33. Die Knochen der FCL1-Gruppe konnten bis auf einen der Stufe 3 zugeordnet werden (Mittelwert = 2,75). Dahingegen erreichten 4 von 6 Proben der FCL2-Gruppe die höchste Stufe 4 mit einem Mittelwert von 3,5. Auch wenn die statistisch errechneten Unterschiede aufgrund der kleinen Gruppengrößen nicht signifikant waren, hiesse das nach White et.al., dass die FCL2-Gruppe eine weitaus höhere Frakturheilungsqualität aufweist²⁹. Die FCL1-Gruppe liegt trotz der kleinen Gruppengrösse noch über der LP-Gruppe. Im Rückschluss würde das bedeuten, dass die FCL2-Gruppe zwar immer im Bezug auf die Kallusquantität hinter der FCL1-Gruppe lag, aber qualitativ besser geheilt und somit stabiler ist. Diese Vernutung wird durch das Ergebnis der Torsionsmessung (Bruchenergie und max. Drehmoment) bekräftigt.

5.6.2.5 Bruchenergie

Die Bruchenergie [Nm-Grad] wird aus dem Integral der Fläche unter der Torsionskurve bis zum Bruch berechnet und stellt die Energiemenge dar, die der Knochen aus der Torsion absorbieren kann bis er bricht. Die Bruchenergie wird in der Literatur als aussagekräftiger als die Steifigkeit und Festigkeit des Knochens beschrieben⁷⁸.

Die LP-Gruppe schnitt mit sehr deutlichem Abstand zu den FCL-Gruppen am schlechtesten ab, was wiederum darauf schliessen lässt, dass das Design der FCL-Konstrukte eine verbesserte Frakturheilung ermöglicht. Weiterhin wird auch hier deutlich, dass die FCL2-Gruppe zwar nicht signifikant, aber dennoch besser als die FCL1-Gruppe war. Das FCL1-Implantat induziert durch die grössere IFB zwar mehr Kallus, allerdings scheint dieser insgesamt von geringerer Qualität zu sein und hält offenbar weniger Belastung aus.

Viele Studien zeigten, dass die Knochenstärke mit der Knochenmineraldichte assoziiert ist^{80,81}. Weitere belegten, dass Zusammenhänge zwischen der Qualität des Kallus einer heilenden Fraktur und der Torsionssteifigkeit⁸¹ bestehen. Kallusquantität und damit die Querschnittsfläche stehen in engem Zusammenhang mit dem max. Drehmoment und

der Torsionssteifigkeit⁸¹. Auch hier scheint sich der Kreis von der positiven Wirkung der moderaten Dynamisierung auf die Kallusquantität aber eben auch auf die Kallusqualität zu schliessen.

5.6.3 Histologische Auswertung

Durch die histomorphometrische Aufarbeitung der Dick- und Fluoreszenzschnitte konnten prozentuale Angaben über die Quantität und die Verteilung der jeweils relevanten Gewebe gemacht werden. Diese konnten schliesslich in Beziehung zu den Auswirkungen der IFB auf die sekundäre Knochenheilung gesetzt werden.

Schon bei der Betrachtung der Übersichtsaufnahme wurde deutlich, dass die Verteilung des Kallusgewebes bei der LP-Gruppe ungleich war. 3 von 6 Cis-Kortizes waren nicht oder unvollständig mit neuem Knochengewebe durchbaut, wohingegen alle Kortizes der FCL-Gruppen vollständig mit neuem Knochengewebegefüllt waren. Dies bekräftigt die Theorie, dass die Frakturheilung unter FCL-Konstrukten, welche eine parallele IFB ermöglichen, begünstigt wird.

5.6.3.1 Histomorphometrische Auswertung der Dickschnitte

Mit der Auswertungsmethode B wurde die gesamte neue Knochenmatrix in 3 Bereiche eingeteilt, sodass Aussagen über die Kallusverteilung und somit ein Vergleich mit den Resultaten der radiologischen Auswertungen (Röntgen und CT) möglich waren. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede, dennoch wurde deutlich, dass mit steigender IFB auch der histologisch erfasste Anteil neuer Knochenmatrix an der Cis-Kortex grösser wurde.

In der Übersichtsfärbung konnte ebenfalls mehr neue Knochenmatrix mit steigender IFB evaluiert werden. Für den signifikant kleineren Wert an altem Knochengewebe der FCL2-Gruppe im Vergleich zur LP-Gruppe gibt es zwei mögliche Ursachen. Erstens wäre ein deutlicher Grössenunterschied der in den jeweiligen Gruppen verwendeten Tiere denkbar. Durch die statistische Analyse von Alter und Körpergewicht konnte allerdings belegt werden, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen allen 3 Gruppen bestanden. Die zweite und wahrscheinlichere Ursache für die Differenz wäre eine unterschiedlich hohe Umbauaktivität (Remodelling). Mit der bereits durch die radiologische Beurteilung ausgewerteten, frühzeitig beginnenden Kallusrückbildung der FCL2-Gruppe könnte auch eine vermehrte Umbaurate im alten Knochen stattgefunden

haben. Alter Knochen wird an die veränderte mechanische Situation angepasst und umgebaut. So wurde in der FCL2-Gruppe insgesamt weniger alter Knochen detektiert als in der LP-Gruppe, in welcher der Umbauvorgang noch nicht so weit fortgeschritten war.

Mit der M-Methode konnte die Situation direkt im Frakturspalt ausgewertet werden. Die Positionen 2 und 5 stellten dabei die direkten Verbindungen zwischen der Cis- bzw. der Trans-Kortex dar. In Position 2 wurde signifikant deutlich, dass mit steigender IFB auch die Resultate der alten Knochenmatrix zunahmen. Da der Frakturspalt standardmässig in allen 3 Gruppen auf dieselbe Weise erzeugt wurde und so stets 3 mm breit war, ist das als Ursache unwahrscheinlich. Es ist vielmehr davon auszugehen, dass es durch die erzeugte parallele IFB in den FCL-Gruppen zu einer Annäherung der Frakturenenden an der Cis-Kortex gekommen sein könnte. Ebenso spricht auch hier der Anstieg der neuen Knochenmatrix in den FCL-Gruppen im Vergleich zur LP-Gruppe dafür, dass die gesteigerte IFB zu mehr Kallusbildung geführt haben könnte. Die relativ hohe Standardabweichung der neuen Knochenmatrix der LP-Gruppe verhinderte allerdings einen statistisch signifikanten Unterschied bei den relativ wenigen Tieren pro Gruppe. Signifikant unterschiedlich war hingegen der Unterschied zwischen alter Knochenmatrix der FCL1-Gruppe und dem gleichen Wert der FCL2-Gruppe in Position 5. Da das FCL1-Implantat deutlich mehr IFB zuließ, kam es hier wahrscheinlich zu einer stärkeren Annäherung der Frakturenenden der Trans-Kortex als in den beiden anderen Gruppen. Durch die Addition der Felder 1, 2 und 3 konnte die mediale Hälfte des Frakturspaltes beleuchtet werden, durch die Summe aus den Feldern 4, 5 und 6 die laterale Hälfte. Es wurde wiederum sichtbar, dass plattennah deutliche Tendenzen im Bezug auf altes Knochengewebe sowie neu gebildeter Knochenmatrix vorhanden waren. Mit steigender IFB steigt der Anteil des alten Knochengewebes, da sich die Frakturenenden mehr aufeinander zu bewegt haben könnten. Auch die Bildung von Kallusgewebe im Frakturspalt könnte hier durch eine steigende IFB forciert worden sein. In der lateralen Hälfte hingegen wurde durch die gleich hohen Werte des Kallusgewebes deutlich, dass das veränderte Implantatdesign keine Wirkung auf die Kallusbildung an der plattenfernen Seite haben könnte. Dies steht allerdings gegensätzlich zu den 3D-Ergebnissen der CT-Auswertung. Hier gab es für das Volumen der lateralen Hälfte signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die unterschiedlichen Resultate sind mit grösster Sicherheit durch die Verschiedenheit der 3D Aufnahme des CT und der 2D Darstellung in der Histologie begründet. Kallus ist

nie einheitlich in seiner Dimension, sondern kann recht einseitig sein. Je nachdem, wo der histologische Schnitt angelegt wird, ist dann mehr oder weniger Kallus vorhanden, was bei den CTs durch die 3D Berechnungen ausgeglichen wird. Diese Unterschiede zeigen jedoch deutlich, dass für eine akkurate Auswertung beide Darstellungen ergänzend vorhanden sein sollten.

5.6.3.2 Auswertung der Fluoreszenzschnitte

Nach den Aussagen über die Quantität und Qualität des Kallus sollte schliesslich mit der Anwendung der Fluoreszenzmethode die Frage beantwortet werden, ob das veränderte Design der FCL-Konstrukte auch eine Wirkung auf die zeitliche Abfolge der Frakturheilung haben könnte. Es ist zu bemerken, dass die hier erhobenen Werte keinesfalls mit den absoluten Kalluswerten aus den anderen Auswertungen verglichen werden können. Fluoreszenzfarbstoffe markieren nur gerade aktives Knochengewebe innerhalb der nächsten 48 bis 72 Stunden nach Injektion und im Besonderen keinesfalls nur Knochenauf-, sondern ebenfalls Um- und Abbauvorgänge⁸².

Es wurde deutlich, dass die Aktivität des Knochenstoffwechsels, gemessen an den fluoreszierenden Bereichen, insgesamt zum Zeitpunkt 1 (4 Wochen post operationem) im Vergleich zwischen den Gruppen gleich gross war. Zu dieser Zeit scheint die erhöhte IFB keine spezielle Wirkung auf die Knochenaktivität zu haben. Dahingegen gab es zum Zeitpunkt 2 (7 Wochen post operationem) deutliche Unterschiede. Für die Gruppen LP und FCL1 konnte eine klare Zunahme der Aktivität gemessen werden, für die FCL2-Gruppe war insgesamt eher ein Abfall zu erkennen. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass das FCL2-Konstrukt zwar weniger IFB ermöglicht als das Design des FCL1-Systems, aber letztendlich gerade soviel, wie für eine gute Heilung nötig ist. Die grössere IFB der FCL1-Gruppe könnte zu einer überschüssenden Kallusbildung und damit verbunden auch zu einer erhöhten Knochenaktivität geführt haben. Da die verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe jeden aktiven Knochen markieren und somit kein Unterschied zwischen altem Knochengewebe und Kallus gemacht werden kann, ist es ebenso möglich, dass in der LP-Gruppe höhere Knochenaktivitäten gemessen wurden. Die zu geringe IFB der LP-Konstrukte könnten zu einer erhöhten Knochenaktivität geführt haben, da auch der Ab- und Umbau im vorhandenen (alten) Knochengewebe markiert wird.

Im Seitenvergleich wurde deutlich, dass einzig die FCL2-Gruppe sowohl nach 4 als auch nach 7 Wochen einen signifikanten Unterschied der

Knochenstoffwechselaktivität zwischen der Cis- und der Trans-Kortex aufwies. Im Hinblick auf das Resultat der histomorphometrischen Auswertung (M-Methode, neues Knochengewebe im Seitenvergleich) kann ein übereinstimmender Zusammenhang zwischen aktivem Knochen und absolut vorhandenem Kallusgewebe erkannt werden. Die Anfärbung weist darauf hin, dass bei der FCL2-Gruppe die Heilung und Remodelling Aktivität bereits weiter fortgeschritten ist.

5.7 Schlussfolgerung und Perspektiven

In der vorliegenden Studie konnte dargelegt werden, dass die durch die FCL-Implantate ermöglichte erhöhte interfragmentäre Bewegung im Rahmen der sekundären Frakturheilung eine positive Wirkung auf die Quantität und Qualität der Kallusbildung hatte. Knochen, deren Frakturen mit FCL-Implantaten versorgt worden waren, zeigten im Verlaufe der Heilung röntgenologisch deutlich höhere Kalluswerte. Auch in histologischen und computertomographischen Auswertungen schnitten diese Konstrukte deutlich besser ab als jene, die mit konventionellen winkelstabilen Implantaten versorgt wurden. Durch mechanische Tests konnte schliesslich die bessere Qualität der Frakturheilung „sichtbar“ gemacht werden. Der Misserfolg durch Implantatbrüche in der FCL1-Gruppe machte allerdings deutlich, dass Ergebnisse aus vorangegangenen *in vitro*-Versuchen nicht ohne weiteres auf das Tier bzw. den Menschen übertragbar sind. Der geringere Durchmesser des gewindelosen Schafts der FCL1-Schrauben ermöglichte eine grössere IFB während der Gliedmassenbelastung der Tiere. Es kam so zu einer Überschreitung der tolerierbaren Krafteinwirkung auf die Übergänge zum Kopf- oder Schraubengewinde. Dort versagten die Implantate. Durch die Vergrösserung des Schaftdurchmessers (FCL2-Implantate) konnte eine sichere Heilung gewährleistet werden. Die guten und z.T. besseren Resultate der FCL2-Gruppe lassen darauf schliessen, dass die verwendeten Implantate genügend und dennoch nicht zuviel IFB ermöglichen und somit eine v.a. qualitativ hochwertige Frakturheilung bei erhaltener Konstrukstabilität forcieren. Ein aktuelle *in vitro*-Studie von Doornink et al. zeigt weitere kliniknahe Ergebnisse nach biomechanischen Testungen an humanen, distalen Femurfrakturen. Auch hier konnten vermehrte und parallele IFB bei erhaltener Konstrukstabilität nachgewiesen werden. Bevor die FCL-Implantate jedoch klinisch zum Einsatz kommen können, müssen noch weitere Studien und v.a. Tierversuche mit gegebenenfalls grösseren Gruppengrössen und variablen Fraktursituationen durchgeführt werden. Nur so kann ein verantwortungsvoller und sicherer Einsatz am Menschen gewährleistet werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Claes L, Wolf S, Augat P: [Mechanical modification of callus healing]. *Chirurg* 71:989-994, 2000
2. Claes L, Augat P, Schorlemmer S, et al: Temporary distraction and compression of a diaphyseal osteotomy accelerates bone healing. *J Orthop Res* 26:772-777, 2008
3. Perren SM: Evolution of the internal fixation of long bone fractures. The scientific basis of biological internal fixation: choosing a new balance between stability and biology. *J Bone Joint Surg Br* 84:1093-1110, 2002
4. Perren SM: Backgrounds of the technology of internal fixators. *Injury* 34 Suppl 2:B1-3, 2003
5. Lujan TJ, Henderson CE, Madey SM, et al: Locked plating of distal femur fractures leads to inconsistent and asymmetric callus formation. *J Orthop Trauma* 24:156-162,
6. Kubiak EN, Fulkerson E, Strauss E, et al: The evolution of locked plates. *J Bone Joint Surg Am* 88 Suppl 4:189-200, 2006
7. Nickel S, Seiferle: *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere 1: Bewegungsapparat: Bd. I. Parey Bei Mvs*, 2003
8. Perren SM: Fracture healing. The evolution of our understanding. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech* 75:241-246, 2008
9. Rüedi AP: Biophysikalische Aspekte der normalen und der heilenden Knochencorticalis. *Langenbecks Arch Chir* 328:109-114, 1971
10. Frost: The Utah Paradigm of Skeletal Physiology. *ISMNI* 1/2, 1960
11. Perren: *Biomechanik der Frakturheilung* 1974, pp 135-139
12. Claes LE, Wilke HJ, Augat P, et al: Effect of dynamization on gap healing of diaphyseal fractures under external fixation. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 10:227-234, 1995
13. Goodship AE, Cunningham JL, Kenwright J: Strain rate and timing of stimulation in mechanical modulation of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*:S105-115, 1998
14. Klein P, Schell H, Streitparth F, et al: The initial phase of fracture healing is specifically sensitive to mechanical conditions. *J Orthop Res* 21:662-669, 2003
15. Claes LE, Heigele CA: Magnitudes of local stress and strain along bony surfaces predict the course and type of fracture healing. *J Biomech* 32:255-266, 1999
16. Goodship AE: Mechanical stimulus to bone. *Ann Rheum Dis* 51:4-6, 1992
17. Claes L, Eckert-Hubner K, Augat P: The fracture gap size influences the local vascularization and tissue differentiation in callus healing. *Langenbecks Arch Surg* 388:316-322, 2003
18. Claes L, Augat P, Suger G, et al: Influence of size and stability of the osteotomy gap on the success of fracture healing. *J Orthop Res* 15:577-584, 1997
19. Duda GN, Eckert-Hubner K, Sokiranski R, et al: Analysis of inter-fragmentary movement as a function of musculoskeletal loading conditions in sheep. *J Biomech* 31:201-210, 1998
20. Goodship AE, Watkins PE, Rigby HS, et al: The role of fixator frame stiffness in the control of fracture healing. An experimental study. *J Biomech* 26:1027-1035, 1993
21. Claes LE, Heigele CA, Neidlinger-Wilke C, et al: Effects of mechanical factors on the fracture healing process. *Clin Orthop Relat Res*:S132-147, 1998

22. Kaspar D, Seidl W, Neidlinger-Wilke C, et al: In vitro effects of dynamic strain on the proliferative and metabolic activity of human osteoblasts. *J Musculoskeletal Neuronal Interact* 1:161-164, 2000
23. Larsson S, Kim W, Caja VL, et al: Effect of early axial dynamization on tibial bone healing: a study in dogs. *Clin Orthop Relat Res*:240-251, 2001
24. Claes L, Eckert-Hubner K, Augat P: The effect of mechanical stability on local vascularization and tissue differentiation in callus healing. *J Orthop Res* 20:1099-1105, 2002
25. Kenwright J, Richardson JB, Cunningham JL, et al: Axial movement and tibial fractures. A controlled randomised trial of treatment. *J Bone Joint Surg Br* 73:654-659, 1991
26. Augat P, Burger J, Schorlemmer S, et al: Shear movement at the fracture site delays healing in a diaphyseal fracture model. *J Orthop Res* 21:1011-1017, 2003
27. Park SH, O'Connor K, McKellop H, et al: The influence of active shear or compressive motion on fracture-healing. *J Bone Joint Surg Am* 80:868-878, 1998
28. Augat P, Merk J, Wolf S, et al: Mechanical stimulation by external application of cyclic tensile strains does not effectively enhance bone healing. *J Orthop Trauma* 15:54-60, 2001
29. White MP, WO Southwick: The four biomechanical stages of fracture repair. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 59:188-192, 1977
30. Frost HM: The Utah paradigm of skeletal physiology: an overview of its insights for bone, cartilage and collagenous tissue organs. *J Bone Miner Metab* 18:305-316, 2000
31. Gardner TN, Hardy JR, Evans M, et al: The static and dynamic behaviour of tibial fractures due to unlocking external fixators. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 11:425-430, 1996
32. Hidaka S, Gustilo RB: Refracture of bones of the forearm after plate removal. *J Bone Joint Surg Am* 66:1241-1243, 1984
33. Fisher WD, Hamblen DL: Problems and pitfalls of compression fixation of long bone fractures: a review of results and complications. *Injury* 10:99-107, 1978
34. Kolodziej P, Lee FS, Patel A, et al: Biomechanical evaluation of the schuhli nut. *Clin Orthop Relat Res*:79-85, 1998
35. Kääb H, Schütz, Südkamp, Haas: Prinzip des Fixateur interne bei Unterarmschaftfrakturen unter Verwendung des Point-contact-Fixateur (PC-Fix). *Trauma Berufskrankheit* 1:407-410, 1999
36. Hopf T, Osthege S: [Interfragmental compression of the Zespol osteosynthesis system. Experimental biomechanical studies]. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 125:546-552, 1987
37. Koukakis A, Apostolou CD, Taneja T, et al: Fixation of proximal humerus fractures using the PHILOS plate: early experience. *Clin Orthop Relat Res* 442:115-120, 2006
38. Marti A, Fankhauser C, Frenk A, et al: Biomechanical evaluation of the less invasive stabilization system for the internal fixation of distal femur fractures. *J Orthop Trauma* 15:482-487, 2001
39. Wagner M: General principles for the clinical use of the LCP. *Injury* 34 Suppl 2:B31-42, 2003
40. Frigg R: Locking Compression Plate (LCP). An osteosynthesis plate based on the Dynamic Compression Plate and the Point Contact Fixator (PC-Fix). *Injury* 32 Suppl 2:63-66, 2001

41. Frigg R: Development of the Locking Compression Plate. *Injury* 34 Suppl 2:B6-10, 2003
42. Egol KA, Kubiak EN, Fulkerson E, et al: Biomechanics of locked plates and screws. *J Orthop Trauma* 18:488-493, 2004
43. Strauss EJ, Schwarzkopf R, Kummer F, et al: The current status of locked plating: the good, the bad, and the ugly. *J Orthop Trauma* 22:479-486, 2008
44. Uthoff HK, Poitras P, Backman DS: Internal plate fixation of fractures: short history and recent developments. *J Orthop Sci* 11:118-126, 2006
45. Sommer C, Gautier E, Muller M, et al: First clinical results of the Locking Compression Plate (LCP). *Injury* 34 Suppl 2:B43-54, 2003
46. Button G, Wolinsky P, Hak D: Failure of less invasive stabilization system plates in the distal femur: a report of four cases. *J Orthop Trauma* 18:565-570, 2004
47. Woo SL, Lothringer KS, Akeson WH, et al: Less rigid internal fixation plates: historical perspectives and new concepts. *J Orthop Res* 1:431-449, 1984
48. Stoffel K, Dieter U, Stachowiak G, et al: Biomechanical testing of the LCP--how can stability in locked internal fixators be controlled? *Injury* 34 Suppl 2:B11-19, 2003
49. Sanders R, Haidukewych GJ, Milne T, et al: Minimal versus maximal plate fixation techniques of the ulna: the biomechanical effect of number of screws and plate length. *J Orthop Trauma* 16:166-171, 2002
50. Gautier E, Sommer C: Guidelines for the clinical application of the LCP. *Injury* 34 Suppl 2:B63-76, 2003
51. Ahmad M, Nanda R, Bajwa AS, et al: Biomechanical testing of the locking compression plate: when does the distance between bone and implant significantly reduce construct stability? *Injury* 38:358-364, 2007
52. Stoffel K, Lorenz KU, Kuster MS: Biomechanical considerations in plate osteosynthesis: the effect of plate-to-bone compression with and without angular screw stability. *J Orthop Trauma* 21:362-368, 2007
53. Kowalski MJ, Schemitsch EH, Harrington RM, et al: A comparative biomechanical evaluation of a noncontacting plate and currently used devices for tibial fixation. *J Trauma* 40:5-9, 1996
54. Gautier E, Perren SM, Cordey J: Effect of plate position relative to bending direction on the rigidity of a plate osteosynthesis. A theoretical analysis. *Injury* 31 Suppl 3:C14-20, 2000
55. Bottlang M, Doornink J, Fitzpatrick DC, et al: Far cortical locking can reduce stiffness of locked plating constructs while retaining construct strength. *J Bone Joint Surg Am* 91:1985-1994, 2009
56. Gardner MJ, Nork SE, Huber P, et al: Stiffness modulation of locking plate constructs using near cortical slotted holes: a preliminary study. *J Orthop Trauma* 23:281-287, 2009
57. Döbele S, Horn C, Eichhorn S, Burgkart R, Lucke M, Koch R, Stöckle: Neues Osteosyntheseverfahren: Die dynamische Kopfverriegelungsschraube DLS (DynamicLockingScrew) Erste biomechanische Ergebnisse, in *Deutscher Kongress für Orthopädie und Unfallchirurgie*, Berlin
58. Lujan TJ HC, O'Donovan M, Bottlang M.: Quantitative Assessment of Periosteal Callus Formation on Planar Radiographs., in *ASME Summer Bioengineering Conference*, CA 2009, Lake Tahoe
59. Nunamaker DM: Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop Relat Res*:S56-65, 1998

60. Auer JA, Goodship A, Arnoczky S, et al: Refining animal models in fracture research: seeking consensus in optimising both animal welfare and scientific validity for appropriate biomedical use. *BMC Musculoskelet Disord* 8:72, 2007
61. Egermann M, Goldhahn J, Holz R, et al: A sheep model for fracture treatment in osteoporosis: benefits of the model versus animal welfare. *Lab Anim* 42:453-464, 2008
62. Martini L, Fini M, Giavaresi G, et al: Sheep model in orthopedic research: a literature review. *Comp Med* 51:292-299, 2001
63. Reinwald S, Burr D: Review of nonprimate, large animal models for osteoporosis research. *J Bone Miner Res* 23:1353-1368, 2008
64. Lienau J, Schmidt-Bleek K, Peters A, et al: Insight into the molecular pathophysiology of delayed bone healing in a sheep model. *Tissue Eng Part A* 16:191-199,
65. Epari DR, Schell H, Bail HJ, et al: Instability prolongs the chondral phase during bone healing in sheep. *Bone* 38:864-870, 2006
66. Dumont C, Kauer F, Bohr S, et al: Long-term effects of saw osteotomy versus random fracturing on bone healing and remodeling in a sheep tibia model. *J Orthop Res* 27:680-686, 2009
67. Sturmer KM, Schuchardt W: [New aspects of closed intramedullary nailing and marrow cavity reaming in animal experiments. I. The tibia of the sheep, as a model for intramedullar nailing (author's transl)]. *Unfallheilkunde* 83:341-345, 1980
68. Waibel A: Osteotomie; der Einfluss des Sägeblattes auf die Knochenheilung, in Departement Pferde der Vetsuisse-Fakultät, Musculoskeletal Research Unit (MSRU). Zürich, Universität Zürich, 2006
69. Pongratz MC: Evaluation von zwei verschiedenen Osteotomiemethoden in einer experimentellen Studie an Schafen, in Departement Pferde der Vetsuisse-Fakultät, Musculoskeletal Research Unit (MSRU). Zürich, Universität Zürich, 2008
70. Mahar AT, Lee SS, Lalonde FD, et al: Biomechanical comparison of stainless steel and titanium nails for fixation of simulated femoral fractures. *J Pediatr Orthop* 24:638-641, 2004
71. Klein K: In vivo Studie verschiedener Hydrogele mit variabler Porenstruktur im Vergleich, in Departement Pferde der Vetsuisse-Fakultät, Musculoskeletal Research Unit (MSRU). Zürich, Universität Zürich, 2008
72. Streifeneder D: In vivo Studie über die osteostimulierende Wirkung von PTH 1-34 bei lokaler Abgabe aus einem Fibrinhydrogel, in Departement Pferde der Vetsuisse-Fakultät, Musculoskeletal Research Unit (MSRU). Zürich, Universität Zürich, 2008
73. Leivseth BF: Orthopädische Biomechanik 2000
74. Barak MM, Sharir A, Shahar R: Optical metrology methods for mechanical testing of whole bones. *Vet J* 180:7-14, 2009
75. Sharir A, Barak MM, Shahar R: Whole bone mechanics and mechanical testing. *Vet J* 177:8-17, 2008
76. Snow M, Thompson G, Turner PG: A mechanical comparison of the locking compression plate (LCP) and the low contact-dynamic compression plate (DCP) in an osteoporotic bone model. *J Orthop Trauma* 22:121-125, 2008
77. Catanzarite J, Alan R, Baig R, et al: Biomechanical testing of unstable humeral shaft fracture plating. *J Surg Orthop Adv* 18:175-181, 2009
78. Turner CH: Bone strength: current concepts. *Ann N Y Acad Sci* 1068:429-446, 2006

79. Flörkemeier H, Halbritter, Wellmann, Witte, Windhagen: Kompressions-, Beuge- und Torsions- Steifigkeitsmessungen zur Vorhersage des Bruchmoments von reifenden Knochen während der Kallusdistraktion, in 67. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie, 89. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie, 44. Tagung des Berufsverbandes der Fachärzte für Orthopädie, Berlin
80. Carter DR, Beaupre GS, Giori NJ, et al: Mechanobiology of skeletal regeneration. Clin Orthop Relat Res:S41-55, 1998
81. Markel MD, Wikenheiser MA, Chao EY: A study of fracture callus material properties: relationship to the torsional strength of bone. J Orthop Res 8:843-850, 1990
82. van Gaalen SM, Kruyt MC, Geuze RE, et al: Use of fluorochrome labels in in vivo bone tissue engineering research. Tissue Eng Part B Rev 16:209-217

7 Abkürzungsverzeichnis

A	anterior (anteriore Ebene)	
BMD	Bone Mineral Density	Knochenmineraldichte
BMC	Bone Mineral Content	Knochenmineralgehalt
CT	Computer Tomographie	
FCL	Far Cortical Locking	
HU	Hounsfield unit	Hounsfield Einheit
IFB	interfragmentäre Bewegung	
i.m.	intramuskulär	
i.v.	intravenös	
kg	Kilogramm	
KGW	Körpergewicht	
L	lateral (laterale Ebene)	
LP	Locking Plate	
M	medial (mediale Ebene)	
N/A	nicht auswertbar	
P	posterior (posteriore Ebene)	
PMMA	Poly-Methyl-Methacrylat	
s.c.	subkutan	
u.a.	unter anderem	
z.Z.	zur Zeit	

8 Anhang

8.1 Tabellen

Tab. 12:

Gruppenzugehörigkeit, Mittelwerte und Standardabweichungen von Alter [Monate] und Gewicht [kg] der Versuchstiere. Die grau geschriebenen Tiere (Nr. 4208, Nr. 4210 und Nr. 4213) konnten aufgrund von Implantatversagen nicht in die weiteren Auswertungen mit einbezogen werden.

Gruppen	Schafnr.	Alter [Monate]	Mittelwert / Standard- abweichung	Gewicht [kg]	Mittelwert / Standard- abweichung
LP	4201	24	31,00 ± 13,25	62	63,33 ± 10,58
	4203	24		55	
	4205	25		58	
	4207	23		53	
	4209	33		72	
	4211	57		80	
FCL1	4202	42	32,71 ± 6,05	65	68,86 ± 8,59
	4204	36		70	
	4206	25		55	
	4208	25		63	
	4210	33		74	
	4212	34		74	
	4213	34		81	
FCL2	4214	36	28,00 ± 6,20	65	59,33 ± 6,44
	4215	24		66	
	4216	36		62	
	4217	24		52	
	4218	24		60	
	4219	24		51	

Tab. 13a:

Einzelerggebnisse der radiologischen Auswertung, anteriorer Kallus in der 275°-Ebene.

Kallusflächeninhalt [mm²] zu sieben aufeinanderfolgenden Zeitpunkten (Woche 3 bis 9 post operationem).

Gruppe	Schafnr.	Kallus W3 [mm ²]	Kallus W4 [mm ²]	Kallus W5 [mm ²]	Kallus W6 [mm ²]	Kallus W7 [mm ²]	Kallus W8 [mm ²]	Kallus W9 [mm ²]
LP	4201	24,10	28,20	28,00	19,30	14,00	6,10	2,40
	4203	0,50	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00	10,90
	4205	0,00	52,10	83,40	27,60	18,20	22,20	14,50
	4207	6,80	18,00	3,70	29,90	28,50	0,00	13,10
	4209	8,30	17,80	37,10	53,10	34,90	27,00	23,70
	4211	5,00	19,90	40,50	42,50	37,30	15,10	12,30
FCL1	4202	4,80	32,00	62,30	161,50	224,50	150,10	87,80
	4204	39,70	118,60	132,60	202,70	152,20	122,00	154,40
	4206	70,60	81,60	119,00	189,90	170,30	100,20	160,90
	4212	0,90	11,90	22,90	36,20	29,40	20,40	88,30
FCL2	4214	42,90	37,40	49,60	36,80	49,00	2,80	9,80
	4215	24,50	63,30	101,70	131,20	131,60	90,00	100,10
	4216	19,10	54,10	107,40	197,00	219,40	153,60	144,80
	4217	37,10	91,70	112,90	105,70	117,00	56,90	46,30
	4218	0,00	15,10	54,90	76,10	101,60	87,20	35,40
	4219	25,30	63,60	98,80	95,90	93,20	71,90	55,20

Tab. 13b:

Einzelergebnisse der radiologischen Auswertung, posteriorer Kallus in der 265°-Ebene.

Kallusflächeninhalt [mm²] zu sieben aufeinanderfolgenden Zeitpunkten (Woche 3 bis 9 post operationem).

Gruppe	Schafnr.	Kallus W3 [mm ²]	Kallus W4 [mm ²]	Kallus W5 [mm ²]	Kallus W6 [mm ²]	Kallus W7 [mm ²]	Kallus W8 [mm ²]	Kallus W9 [mm ²]
LP	4201	70,10	159,00	175,70	189,20	182,80	181,00	150,30
	4203	0,00	11,90	26,00	17,50	28,30	11,80	57,50
	4205	34,50	79,40	79,00	114,00	102,80	103,80	113,80
	4207	39,80	52,50	68,70	70,60	73,30	56,10	58,40
	4209	40,80	90,40	118,10	124,90	131,20	135,40	149,60
	4211	6,10	57,30	142,50	92,20	108,40	87,10	79,10
FCL1	4202	37,00	77,70	114,20	137,70	155,40	155,40	218,80
	4204	56,40	176,90	227,90	251,90	248,80	318,60	284,20
	4206	99,50	154,80	197,00	182,80	226,20	188,80	241,90
	4212	23,00	35,40	58,40	80,60	104,50	106,40	106,10
FCL2	4214	51,60	73,70	94,90	81,40	89,10	83,10	88,70
	4215	21,80	43,40	69,60	87,20	107,40	92,90	111,40
	4216	40,30	90,40	155,90	205,00	172,90	175,40	122,80
	4217	112,50	160,60	178,70	146,90	131,80	152,50	162,80
	4218	56,90	98,10	138,20	122,90	156,20	141,10	125,50
	4219	19,10	123,20	137,90	163,10	131,40	131,00	110,80

Tab. 13c:

Einzelergebnisse der radiologischen Auswertung, lateraler Kallus in der 0°-Ebene.

Kallusflächeninhalt [mm²] zu sieben aufeinanderfolgenden Zeitpunkten (Woche 3 bis 9 post operationem).

Gruppe	Schafnr.	Kallus W3 [mm ²]	Kallus W4 [mm ²]	Kallus W5 [mm ²]	Kallus W6 [mm ²]	Kallus W7 [mm ²]	Kallus W8 [mm ²]	Kallus W9 [mm ²]
LP	4201	66,10	114,80	164,00	147,00	127,60	106,70	90,40
	4203	0,00	103,20	135,70	175,30	146,00	123,30	140,80
	4205	70,10	120,20	169,70	211,60	199,00	167,10	149,60
	4207	79,00	99,90	99,60	143,90	187,00	155,30	157,00
	4209	0,00	97,30	150,40	136,40	160,10	147,90	112,40
	4211	5,70	44,20	146,80	129,80	167,30	172,00	145,10
FCL1	4202	20,30	152,00	139,10	161,60	163,80	200,80	180,10
	4204	22,90	155,90	186,20	203,50	238,50	167,40	165,70
	4206	83,60	112,50	144,40	141,60	127,30	140,30	161,00
	4212	61,10	85,00	34,20	156,00	167,00	152,20	151,30
FCL2	4214	20,30	152,00	139,10	161,60	163,80	200,80	180,10
	4215	22,90	155,90	186,20	203,50	238,50	167,40	165,70
	4216	83,60	112,50	144,40	141,60	127,30	140,30	161,00
	4217	61,10	85,00	34,20	156,00	167,00	152,20	151,30
	4218	20,30	152,00	139,10	161,60	163,80	200,80	180,10
	4219	22,90	155,90	186,20	203,50	238,50	167,40	165,70

Tab. 14a:

Einzelergebnisse der computertomographischen Auswertung.

Kallusvolumen [mm³], Knochenmineralkonzentration [mgHA], Knochenmineraldichte [mgHA/cm³] und maximale Querschnittsfläche [mm²] des Kallus.

Gruppe	Schafnr.	Kallusvolumen [mm ³]	Knochenmineral- konzentration [mgHA]	Knochenmineral- dichte [mgHA/cm ³]	maximale Querschnitts- fläche [mm ²]
LP	4201	3468,64	2121,82	611,72	384,88
	4203	3647,51	2134,99	585,33	422,82
	4205	4445,20	2915,77	655,94	430,61
	4207	4841,26	3011,69	622,09	500,32
	4209	4188,31	2827,95	675,20	455,57
	4211	5973,88	4501,94	753,60	531,21
FCL1	4202	7904,21	5074,69	642,02	661,12
	4204	8684,48	5376,28	619,07	682,37
	4206	7825,73	5740,16	733,50	731,56
	4212	7067,29	4891,36	692,11	677,35
FCL2	4214	4633,36	3468,24	748,54	467,57
	4215	5875,78	3221,94	548,34	580,57
	4216	8117,19	5704,80	702,80	691,36
	4217	4917,08	3060,02	622,32	496,62
	4218	5332,39	4018,09	753,53	535,17
	4219	6814,71	4355,10	639,07	553,53

Tab. 14b:

Einzelergebnisse der computertomographischen Auswertung im Seitenvergleich.

Kallusvolumen [mm³], Knochenmineralkonzentration [mgHA], Knochenmineraldichte [mgHA/cm³].

Gruppe	Schafnr.	Kallusvolumen [mm ³]		Knochenmineral- konzentration [mgHA]		Knochenmineral- dichte [mgHA/cm ³]	
		medial	lateral	medial	lateral	medial	lateral
LP	4201	1425,55	2063,21	968,13	1627,80	679,12	788,97
	4203	1466,49	2133,02	835,40	1102,25	569,66	516,75
	4205	1265,92	3129,79	762,38	2230,50	602,23	712,67
	4207	1533,33	3314,70	964,46	2022,37	628,99	610,12
	4209	1606,79	2558,53	1086,01	2060,86	675,89	805,49
	4211	2203,66	3541,71	1210,97	2464,71	549,53	695,91
FCL1	4202	3802,06	4138,09	2487,11	2353,93	654,15	568,85
	4204	2525,46	4203,69	1428,77	2950,65	565,75	701,92
	4206	3017,76	4807,97	1679,98	2892,35	556,70	601,57
	4212	3679,08	3396,22	2155,46	2135,36	585,87	628,75
FCL2	4214	3005,90	1627,46	2074,18	1053,06	690,04	647,06
	4215	2420,00	3455,26	1830,48	2659,29	756,40	769,63
	4216	4533,83	3532,67	2863,74	2204,77	631,64	624,11
	4217	2360,95	2564,69	1715,07	1633,97	726,43	637,10
	4218	1993,44	3353,23	1442,94	2558,12	723,85	762,88
	4219	3783,47	3068,05	2691,57	2270,27	711,40	739,97

Tab. 15:

Einzelergebnisse der Biegungsversuche.

Biegesteifigkeiten [Nm²] in den 4 Ebenen Anterior, Lateral, Posterior und Medial.

Ebene A wurde zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit wiederholt getestet (A2).

Gruppe	Probe	A	L	P	M	A2
LP	4201R	95,36	77,23	90,55	99,27	79,02
	4203R	24,66	25,09	22,66	41,14	18,59
	4205R	84,50	111,41	80,85	133,83	84,90
	4207R	51,38	92,19	79,06	116,75	55,00
	4209R	108,17	127,56	127,56	134,85	118,03
	4211R	95,36	92,25	137,79	117,67	79,87
FCL1	4202R	35,48	56,19	68,98	54,01	35,48
	4204R	91,72	60,84	93,68	126,28	86,23
	4206R	126,44	79,24	72,36	113,90	126,44
	4212R	156,12	177,94	192,51	131,13	143,74
FCL2	4214R	89,85	140,22	98,37	92,81	80,59
	4215R	113,16	171,38	100,22	114,17	127,21
	4216R	74,25	98,45	38,52	114,69	78,18
	4217R	71,97	123,30	75,74	116,98	79,73
	4218R	102,89	99,90	72,33	98,08	109,07
	4219R	128,20	101,39	77,89	130,90	109,14
Intakter Knochen	4203L	106,99	134,23	99,30	118,89	102,29
	4209L	182,54	176,52	170,09	198,71	174,14
	4211L	171,67	118,47	185,62	61,80	179,42
	4212L	98,29	136,85	125,14	166,50	123,51
	4214L	147,93	162,35	101,08	155,28	154,81
	4215L	145,58	145,58	191,31	145,39	170,14
	4216L	141,52	197,23	89,34	164,96	133,68
	4217L	74,03	145,12	52,90	129,60	59,35
	4218L	109,44	167,98	61,62	127,25	95,40
	4219L	106,36	131,61	80,43	131,36	110,97

Tab. 16:

Einzelergebnisse der Torsionsversuche.

Torsionsfestigkeit [Nm/Grad], Torsionssteifigkeit [Nm²/Grad] und [% des intakten Knochens = % IK], maximales Drehmoment [Nm] und [% IK], Bruchenergie [Nm-Grad] und [% IK].

Gruppe	Probe	Torsion- festigkeit [Nm/Grad]	Torsion- steifigkeit [Nm ² /Grad]	Torsions- steifigkeit [% IK]	max. Dreh- moment [Nm]	max. Dreh- moment [% IK]	Bruch- energie [NmGrad]	Bruch- energie [% IK]
LP	4201R	4,03	0,69	N/A	22,54	N/A	86,99	N/A
	4203R	1,98	0,34	40,36	7,16	27,40	19,85	25,37
	4205R	4,53	0,77	N/A	35,96	N/A	171,98	N/A
	4207R	5,13	0,87	N/A	26,99	N/A	101,63	N/A
	4209R	5,98	1,02	76,59	41,89	100,28	123,78	59,73
	4211R	5,00	0,85	84,90	34,65	57,61	154,77	47,26
FCL1	4202R	4,49	0,76	N/A	34,36	N/A	211,30	N/A
	4204R	6,42	1,09	N/A	46,72	N/A	212,13	N/A
	4206R	5,58	0,95	N/A	49,85	N/A	250,21	N/A
	4212R	7,29	1,24	128,06	39,15	51,48	152,00	24,89
FCL2	4214R	6,63	1,13	147,37	45,41	64,94	298,17	56,37
	4215R	4,78	0,81	94,09	49,25	67,76	361,47	62,67
	4216R	4,21	0,72	91,69	38,13	59,20	275,35	54,35
	4217R	5,18	0,88	123,58	33,58	66,41	197,13	62,24
	4218R	4,62	0,79	109,18	45,21	67,86	253,76	43,15
	4219R	4,97	0,84	108,61	48,91	69,53	306,57	45,69
Intakter Knochen	4203L	4,91	0,83	-	26,12	-	78,26	-
	4209L	7,80	1,33	-	41,77	-	207,23	-
	4211L	5,89	1,00	-	60,14	-	327,45	-
	4212L	5,69	0,97	-	76,04	-	610,59	-
	4214L	4,50	0,76	-	69,93	-	528,93	-
	4215L	5,08	0,86	-	72,68	-	576,76	-
	4216L	4,60	0,78	-	64,41	-	506,65	-
	4217L	4,19	0,71	-	50,57	-	316,70	-
	4218L	4,23	0,72	-	66,63	-	588,16	-
	4219L	4,58	0,78	-	70,35	-	670,95	-

Tab. 17:

Einzelergebnisse der histomorphometrischen Auswertung (Übersichtsfärbung).

Gesamtfläche, alte Knochenmatrix, neue Knochenmatrix, fibröses Gewebe und Hintergrund [Pixel].

Gruppe	Schafnr.	Gesamtfläche	alte Knochen- matrix	neue Knochen- matrix	fibröses Gewebe	Hintergrund
LP	4201	37442000	6257500	3698800	8148700	19336000
	4203	37442000	5144300	5556500	9164600	17576000
	4205	37442000	7327000	5062800	9189800	15862000
	4207	37442000	5919700	9025900	6876000	15620000
	4209	37442000	6476400	5759000	7211600	17994000
	4211	37442000	7212200	7226800	10049000	12952000
FCL1	4202	37442000	6751100	7303900	5536800	17847000
	4204	37442000	4816600	9162000	5833000	17613000
	4206	37442000	5651900	9017200	7065500	15703000
	4212	37442000	6578600	6598600	10022000	14241000
FCL2	4214	37442000	4569100	5244100	10118000	17511000
	4215	37442000	5907400	8696200	7677400	15161000
	4216	37442000	4547400	6694200	8917700	17282000
	4217	37442000	3599100	7365300	10709000	15768000
	4218	37442000	4337600	7035200	8345600	17724000
	4219	37442000	4434100	6430400	8525600	18051000

Tab. 18:
Einzelergebnisse der histomorphometrischen Auswertung (B-Methode).
Gesamtfläche, Kallus Cis- und Trans-Kortex, Kallus endostal und Hintergrund [Pixel].

Gruppe	Schafnr.	Gesamtfläche	Kallus Cis-Kortex	Kallus Trans- Kortex	Kallus endostal	Hintergrund
LP	4201	37442000	662030	360340	2286400	34133000
	4203	37442000	1591100	441550	2929300	32480000
	4205	37442000	990080	906490	2973800	32572000
	4207	37442000	3909900	816780	3809200	28906000
	4209	37442000	1896300	952760	2270000	32323000
	4211	37442000	1987500	638370	4068700	30746000
FCL1	4202	37442000	867910	1804300	4119200	30648000
	4204	37442000	3958300	692320	3528000	29263000
	4206	37442000	3849800	1316900	2216300	30059000
	4212	37442000	2716300	729230	2731700	31263000
FCL2	4214	37442000	1495400	530710	2822900	32593000
	4215	37442000	2993500	1574100	3902400	28972000
	4216	37442000	2235600	856530	3270900	31079000
	4217	37442000	964290	725710	4223000	31529000
	4218	37442000	1748600	1327300	3092600	31273000
	4219	37442000	1081800	1340900	3234400	31784000

Tab. 19a:

Einzelergebnisse der histomorphometrischen Auswertung (M-Methode, Positionen 1 bis 3).

Gesamtfläche, alte Knochenmatrix, neue Knochenmatrix, fibröses Gewebe und Hintergrund [Pixel].

Position	Gruppe	Schafnr.	Gesamtfläche	neue Knochenmatrix	alte Knochenmatrix	fibröses Gewebe	Hintergrund
1	LP	4201	37442000	0	1356	20575	37420000
		4203	37442000	480	40716	54976	37346000
		4205	37442000	312	107790	82857	37251000
		4207	37442000	396	124230	57147	37260000
		4209	37442000	8	78766	52653	37311000
		4211	37442000	3847	8174	35452	37395000
	FCL1	4202	37442000	2986	204370	87351	37147293
		4204	37442000	4053	93696	17825	37326000
		4206	37442000	15	152780	82758	37206000
		4212	37442000	5980	70630	90543	37275000
	FCL2	4214	37442000	4769	124690	166220	37146000
		4215	37442000	1143	145160	97939	37198000
		4216	37442000	5530	89309	53079	37294000
		4217	37442000	0	102050	74873	37265000
		4218	37442000	2544	155610	76854	37207000
		4219	37442000	602	142590	62266	37237000
2	LP	4201	37442000	51952	64315	403980	36922000
		4203	37442000	34371	306720	189240	36912000
		4205	37442000	46231	335050	149050	36912000
		4207	37442000	42544	395060	92737	36912000
		4209	37442000	43816	255620	230900	36912000
		4211	37442000	55266	158030	317040	36912000
	FCL1	4202	37442000	71986	391210	67142	36912000
		4204	37442000	98092	349270	40389	36954000
		4206	37442000	57368	319260	153710	36912000
		4212	37442000	93498	292810	144030	36912000
	FCL2	4214	37442000	101640	286000	142690	36912000
		4215	37442000	61642	288650	180050	36912000
		4216	37442000	58808	273210	198320	36912000
		4217	37442000	57696	286480	186170	36912000
		4218	37442000	75285	268130	186920	36912000
		4219	37442000	73068	267070	190170	36912000
3	LP	4201	37442000	15	109910	420420	36912000
		4203	37442000	38	310860	219440	36912000
		4205	37442000	3474	73883	452940	36912000
		4207	37442000	145	398830	131370	36912000
		4209	37442000	1424	66281	462630	36912000
		4211	37442000	4494	257190	268650	36912000
	FCL1	4202	37442000	8745	206190	315400	36912000
		4204	37442000	1668	418510	107490	36914000
		4206	37442000	274	420390	109670	36912000
		4212	37442000	5340	331210	193790	36912000
	FCL2	4214	37442000	3748	258090	268500	36912000
		4215	37442000	5043	391420	133870	36912000
		4216	37442000	480	254590	275270	36912000
		4217	37442000	3976	198720	327630	36912000
		4218	37442000	152	312620	217570	36912000
		4219	37442000	579	138060	391660	36912000

Tab. 19.b:

Einzelergebnisse der histomorphometrischen Auswertung (M-Methode, Positionen 4 bis 6).

Gesamtfläche, alte Knochenmatrix, neue Knochenmatrix, fibröses Gewebe und Hintergrund [Pixel].

Position	Gruppe	Schafnr.	Gesamtfläche	Neue Knochenmatrix	Alte Knochenmatrix	Fibröses Gewebe	Hintergrund
4	LP	4201	37442000	0	136190	394150	36912000
		4203	37442000	0	24833	505500	36912000
		4205	37442000	2034	258600	269590	36912000
		4207	37442000	0	448000	82339	36912000
		4209	37442000	427	402090	127820	36912000
		4211	37442000	8151	376250	145940	36912000
	FCL1	4202	37442000	11305	204310	314710	36912000
		4204	37442000	274	430340	99722	36912000
		4206	37442000	0	435260	95075	36912000
		4212	37442000	769	323060	206510	36912000
	FCL2	4214	37442000	5919	224970	299410	36912000
		4215	37442000	8059	378200	144080	36912000
		4216	37442000	0	290970	239360	36912000
		4217	37442000	0	148140	382200	36912000
		4218	37442000	419	355060	174850	36912000
		4219	37442000	46	128480	401710	36912000
5	LP	4201	37442000	80876	376190	73274	36912000
		4203	37442000	86536	115890	327910	36912000
		4205	37442000	79322	390150	60865	36912000
		4207	37442000	84822	341360	104160	36912000
		4209	37442000	126660	341110	62571	36912000
		4211	37442000	121200	295620	113530	36912000
	FCL1	4202	37442000	88798	297250	144280	36912000
		4204	37442000	250670	197520	82141	36912000
		4206	37442000	118440	232810	179070	36912000
		4212	37442000	198980	258070	73289	36912000
	FCL2	4214	37442000	137140	275390	117810	36912000
		4215	37442000	82697	318470	129170	36912000
		4216	37442000	56370	326150	147820	36912000
		4217	37442000	44487	329630	156210	36912000
		4218	37442000	82750	320560	127020	36912000
		4219	37442000	70013	326320	133990	36912000
6	LP	4201	37442000	0	370510	96934	36975000
		4203	37442000	0	233910	296430	36912000
		4205	37442000	4403	397500	128430	36912000
		4207	37442000	122	256650	273560	36912000
		4209	37442000	3337	349760	133010	36956000
		4211	37442000	52782	374290	103260	36912000
	FCL1	4202	37442000	30	325620	204680	36912000
		4204	37442000	68002	368140	94199	36912000
		4206	37442000	320	291170	237430	36913000
		4212	37442000	20712	369100	140520	36912000
	FCL2	4214	37442000	8783	376310	145240	36912000
		4215	37442000	1554	434230	94557	36912000
		4216	37442000	0	425210	105120	36912000
		4217	37442000	503	279310	250520	36912000
		4218	37442000	9210	342070	179060	36912000
		4219	37442000	0	396550	133790	36912000

Tab. 20a:

Einzelergebnisse aus der Fluoreszenzauswertung (Positionen 1 und 2).

Gesamtfläche, Calcein Grün (4 Wochen post operationem), Xylenol Orange (7 Wochen post operationem) und Hintergrund [Pixel].

Position	Filter	Gruppe	Schafnr.	Gesamt	Calcein Grün (W4)	Xylenol Orange (W7)	Hintergrund
1	Grün	FCL1	4202	9908500	402300	0	9506200
			4204	9908500	29031	0	9879500
			4206	9908500	1199100	0	8709400
			4212	9908500	141760	0	9766800
		FCL2	4214	9908500	1702900	0	8205600
			4215	9908500	3246500	0	6662000
			4216	9908500	108480	0	9800000
			4217	9908500	388230	0	9520300
			4218	9908500	508320	0	9400200
			4219	9908500	828000	0	9080500
		LP	4201	9908500	0	0	9908500
			4203	9908500	131920	0	9776600
			4205	9908500	1203600	0	8705000
			4207	9908500	1551100	0	8357500
			4209	9908500	273790	0	9634700
			4211	9908500	253160	0	9655400
	Rot	FCL1	4202	9908500	0	3789800	6118700
			4204	9908500	0	2276100	7632400
			4206	9908500	0	3952900	5955600
			4212	9908500	0	2164000	7744500
		FCL2	4214	9908500	0	4218700	5689800
			4215	9908500	0	1093900	8814600
			4216	9908500	0	592890	9315600
			4217	9908500	0	1074100	8834400
			4218	9908500	0	1970700	7937800
			4219	9908500	0	2239600	7668900
		LP	4201	9908500	0	0	9908500
			4203	9908500	0	1737300	8171200
			4205	9908500	0	2936400	6972100
			4207	9908500	0	4076300	5832200
			4209	9908500	0	2410900	7497600
			4211	9908500	0	931690	8976800
2	Grün	FCL1	4202	9908500	199070	0	9709400
			4204	9908500	4117000	0	5791500
			4206	9908500	1053300	0	8855200
			4212	9908500	1230500	0	8678000
		FCL2	4214	9908500	2901600	0	7006900
			4215	9908500	2827400	0	7081100
			4216	9908500	845230	0	9063300
			4217	9908500	1316700	0	8591800
			4218	9908500	1399800	0	8508700
			4219	9908500	140160	0	9768400
		LP	4201	9908500	69983	0	9838500
			4203	9908500	653720	0	9254800
			4205	9908500	806480	0	9102000
			4207	9908500	5248800	0	4659700
			4209	9908500	506170	0	9402400
			4211	9908500	2775500	0	7133000
	Rot	FCL1	4202	9908500	0	5377000	4531500
			4204	9908500	0	3597100	6311400
			4206	9908500	0	5942900	3965700
			4212	9908500	0	6650500	3258000
		FCL2	4214	9908500	0	2390400	7518100
			4215	9908500	0	1770900	8137600
			4216	9908500	0	589950	9318600
			4217	9908500	0	758460	9150100
			4218	9908500	0	4753900	5154700
			4219	9908500	0	3111800	6796700
		LP	4201	9908500	0	185340	9723200
			4203	9908500	0	4835000	5073500
			4205	9908500	0	2563300	7345200
			4207	9908500	0	6599300	3309300
			4209	9908500	0	864470	9044000
			4211	9908500	0	3640000	6268500

Tab. 20b:

Einzelergebnisse aus der Fluoreszenzauswertung (Positionen 3 und 4).

Gesamtfläche, Calcein Grün (4 Wochen post operationem), Xylenol Orange (7 Wochen post operationem) und Hintergrund [Pixel].

Position	Filter	Gruppe	Schafnr.	Gesamt	Calcein Grün (W4)	Xylenol Orange (W7)	Hintergrund
3	Grün	FCL1	4202	9908500	267	0	9908300
			4204	9908500	7147900	0	2760600
			4206	9908500	2277900	0	7630600
			4212	9908500	1080200	0	8828300
		FCL2	4214	9908500	4555500	0	5353000
			4215	9908500	3316300	0	6592200
			4216	9908500	339710	0	9568800
			4217	9908500	651920	0	9256600
			4218	9908500	4154400	0	5754200
			4219	9908500	374990	0	9533500
		LP	4201	9908500	175080	0	9733400
			4203	9908500	213290	0	9695200
			4205	9908500	1025300	0	8883200
			4207	9908500	6228900	0	3679600
			4209	9908500	2728000	0	7180500
			4211	9908500	7289300	0	2619200
	Rot	FCL1	4202	9908500	0	5212600	4695900
			4204	9908500	0	8968800	939720
			4206	9908500	0	8164500	1744100
			4212	9908500	0	6055000	3853500
		FCL2	4214	9908500	0	577670	9330800
			4215	9908500	0	1155200	8753300
			4216	9908500	0	1634300	8274200
			4217	9908500	0	158980	9749500
			4218	9908500	0	6652300	3256200
			4219	9908500	0	391250	9517300
		LP	4201	9908500	0	244960	9663600
			4203	9908500	0	1492500	8416000
			4205	9908500	0	1340700	8567800
			4207	9908500	0	9370200	538290
			4209	9908500	0	2580500	7328000
			4211	9908500	0	8560400	1348200
4	Grün	FCL1	4202	9908500	0	0	9908500
			4204	9908500	3513300	0	6395200
			4206	9908500	992600	0	8915900
			4212	9908500	1486700	0	8421800
		FCL2	4214	9908500	4608800	0	5299800
			4215	9908500	5503200	0	4405300
			4216	9908500	738720	0	9169800
			4217	9908500	2055400	0	7853200
			4218	9908500	2219800	0	7688700
			4219	9908500	1950900	0	7957600
		LP	4201	9908500	741090	0	9167400
			4203	9908500	273590	0	9634900
			4205	9908500	2110300	0	7798200
			4207	9908500	1110700	0	8797800
			4209	9908500	4974900	0	4933600
			4211	9908500	2646100	0	7262400
	Rot	FCL1	4202	9908500	0	2820200	7088300
			4204	9908500	0	4738800	5169700
			4206	9908500	0	2588600	7320000
			4212	9908500	0	5388200	4520300
		FCL2	4214	9908500	0	2567100	7341400
			4215	9908500	0	1699300	8209200
			4216	9908500	0	1959800	7948700
			4217	9908500	0	2338300	7570200
			4218	9908500	0	4382100	5526500
			4219	9908500	0	1412000	8496500
		LP	4201	9908500	0	2245400	7663100
			4203	9908500	0	900180	9008300
			4205	9908500	0	6085100	3823400
			4207	9908500	0	5078600	4829900
			4209	9908500	0	7579400	2329100
			4211	9908500	0	7078500	2830100

Tab. 20c:

Einzelergbnisse aus der Fluoreszenzauswertung (Positionen 5 und 6).

Gesamtfläche, Calcein Grün (4 Wochen post operationem), Xylenol Orange (7 Wochen post operationem) und Hintergrund [Pixel].

Position	Filter	Gruppe	Schafnr.	Gesamt	Calcein Grün (W4)	Xylenol Orange (W7)	Hintergrund
5	Grün	FCL1	4202	9908500	2414300	0	7494200
			4204	9908500	3848600	0	6059900
			4206	9908500	1221300	0	8687300
			4212	9908500	2108900	0	7799600
		FCL2	4214	9908500	5592000	0	4316600
			4215	9908500	4441200	0	5467300
			4216	9908500	1128200	0	8780300
			4217	9908500	2748200	0	7160300
			4218	9908500	3048800	0	6859700
			4219	9908500	2337200	0	7571300
		LP	4201	9908500	6247000	0	3661600
			4203	9908500	4334500	0	5574100
			4205	9908500	2916200	0	6992300
			4207	9908500	2769400	0	7139100
			4209	9908500	4493600	0	5414900
			4211	9908500	748520	0	9160000
	Rot	FCL1	4202	9908500	0	6218600	3689900
			4204	9908500	0	7354100	2554400
			4206	9908500	0	3537800	6370700
			4212	9908500	0	6007500	3901000
		FCL2	4214	9908500	0	4189900	5718700
			4215	9908500	0	3483600	6424900
			4216	9908500	0	3704800	6203700
			4217	9908500	0	3106500	6802000
			4218	9908500	0	5901800	4006700
			4219	9908500	0	3634200	6274300
		LP	4201	9908500	0	4948900	4959600
			4203	9908500	0	4434600	5473900
			4205	9908500	0	4934800	4973700
			4207	9908500	0	4590600	5317900
			4209	9908500	0	7675300	2233200
			4211	9908500	0	5130600	4777900
6	Grün	FCL1	4202	9908500	3279200	0	6629300
			4204	9908500	886940	0	9021600
			4206	9908500	4141300	0	5767200
			4212	9908500	483260	0	9425300
		FCL2	4215	9908500	3125100	0	6783400
			4216	9908500	1307700	0	8600800
			4217	9908500	908860	0	8999700
			4219	9908500	1095800	0	8812700
		LP	4201	9908500	1287900	0	8620600
			4203	9908500	766520	0	9142000
			4205	9908500	398640	0	9509900
			4207	9908500	975680	0	8932800
			4209	9908500	3445500	0	6463100
			4211	9908500	2079800	0	7828700
	Rot	FCL1	4202	9908500	0	4505700	5402800
			4204	9908500	0	1424900	8483600
			4206	9908500	0	1270600	8637900
			4212	9908500	0	2125200	7783400
		FCL2	4215	9908500	0	200750	9707800
			4216	9908500	0	142710	9765800
			4217	9908500	0	120930	9787600
			4219	9908500	0	902170	9006300
		LP	4201	9908500	0	474790	9433700
			4203	9908500	0	42506	9866000
			4205	9908500	0	1051600	8856900
			4207	9908500	0	231790	9676700
			4209	9908500	0	3793600	6114900
			4211	9908500	0	2610500	7298000

Tab. 20d:

Einzelergebnisse aus der Fluoreszenzauswertung (Positionen 7 und 8).

Gesamtfläche, Calcein Grün (4 Wochen post operationem), Xylenol Orange (7 Wochen post operationem) und Hintergrund [Pixel].

Position	Filter	Gruppe	Schafnr.	Gesamt	Calcein Grün (W4)	Xylenol Orange (W7)	Hintergrund
7	Grün	FCL1	4202	9908500	984630	0	8923900
			4204	9908500	0	0	9908500
			4206	9908500	542990	0	9365500
			4212	9908500	946560	0	8962000
		FCL2	4214	9908500	766700	0	9141800
			4215	9908500	1887000	0	8021500
			4216	9908500	46665	0	9861900
			4217	9908500	382620	0	9525900
			4218	9908500	1170000	0	8738500
			4219	9908500	39817	0	9868700
			4201	9908500	45698	0	9862800
			4203	9908500	0	0	9908500
		LP	4205	9908500	1033000	0	8875500
			4207	9908500	464380	0	9444100
			4209	9908500	10505	0	9898000
			4211	9908500	472730	0	9435800
	Rot	FCL1	4202	9908500	0	2926000	6982500
			4204	9908500	0	3283	9905200
			4206	9908500	0	931660	8976900
			4212	9908500	0	282590	9625900
		FCL2	4214	9908500	0	214900	9693600
			4215	9908500	0	79665	9828900
			4216	9908500	0	80076	9828400
			4217	9908500	0	19912	9888600
			4218	9908500	0	613190	9295300
			4219	9908500	0	304690	9603800
			4201	9908500	0	34211	9874300
		LP	4203	9908500	0	30242	9878300
			4205	9908500	0	40785	9867700
			4207	9908500	0	12089	9896400
			4209	9908500	0	69236	9839300
			4211	9908500	0	60651	9847900
8	Grün	FCL1	4202	9908500	1952800	0	7955700
			4204	9908500	1081500	0	8827000
			4206	9908500	2755400	0	7153100
		FCL2	4214	9908500	526480	0	9382000
			4215	9908500	2308500	0	7600000
			4216	9908500	373020	0	9535500
			4218	9908500	272650	0	9635900
			4219	9908500	870540	0	9038000
		LP	4201	9908500	807	0	9907700
			4203	9908500	30775	0	9877700
			4205	9908500	265000	0	9643500
			4207	9908500	1105	0	9907400
			4209	9908500	142350	0	9766200
			4211	9908500	740360	0	9168200
	Rot	FCL1	4202	9908500	0	1648700	8259800
			4204	9908500	0	2041800	7866700
			4206	9908500	0	685080	9223400
		FCL2	4214	9908500	0	248630	9659900
			4215	9908500	0	481070	9427400
			4216	9908500	0	70760	9837800
			4218	9908500	0	75650	9832900
			4219	9908500	0	128050	9780500
		LP	4201	9908500	0	51335	9857200
			4203	9908500	0	5165	9903400
			4205	9908500	0	444910	9463600
			4207	9908500	0	42141	9866400
			4209	9908500	0	194570	9713900
			4211	9908500	0	1410800	8497700

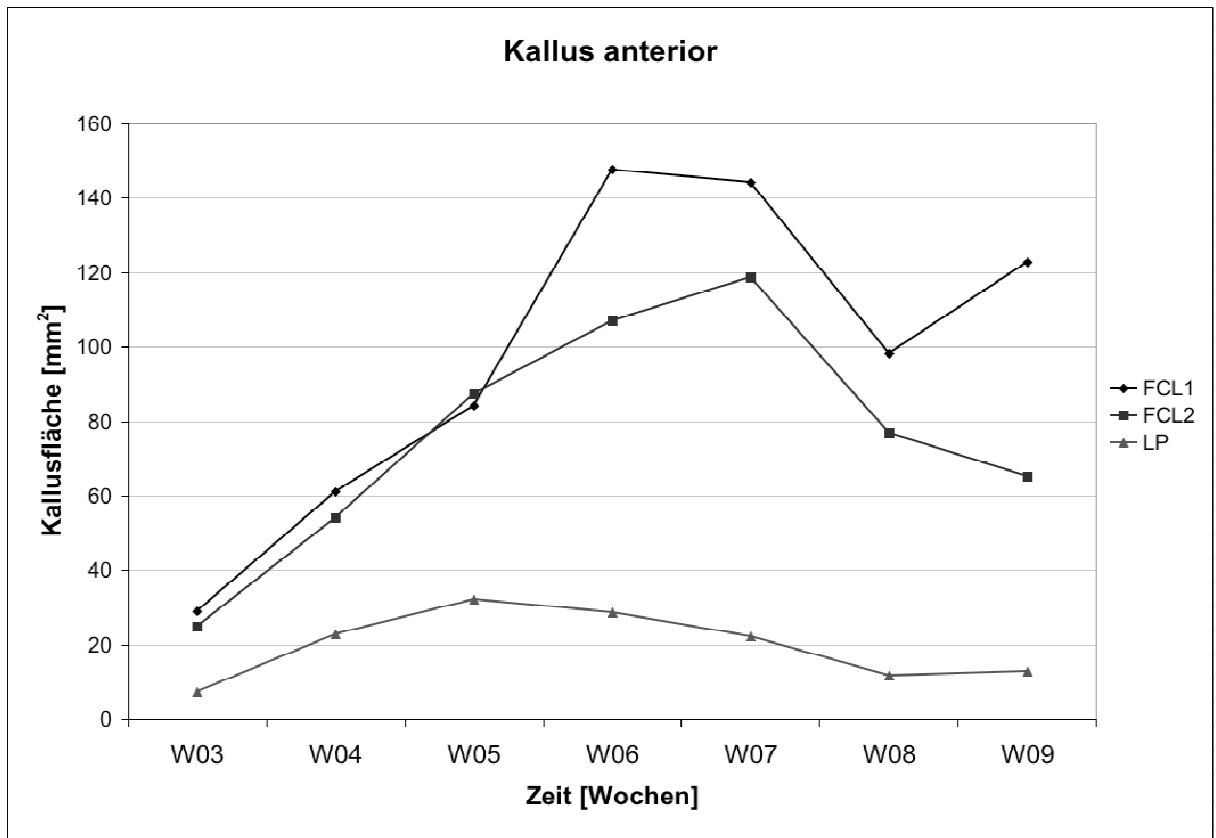
Tab. 20e:

Einzelergbnisse aus der Fluoreszenzauswertung (Position 9).

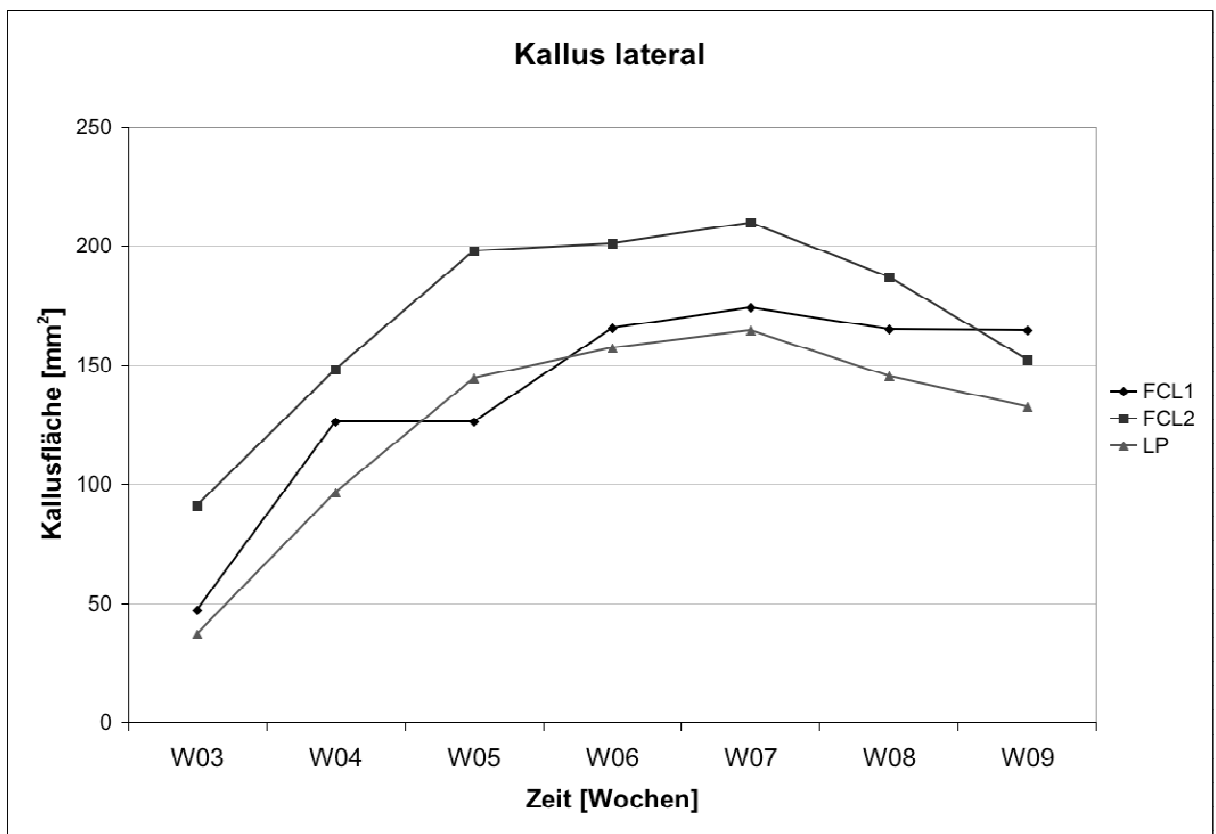
Gesamtfläche, Calcein Grün (4 Wochen post operationem), Xylenol Orange (7 Wochen post operationem) und Hintergrund [Pixel].

Position	Filter	Gruppe	Schafnr.	Gesamt	Calcein Grün (W4)	Xylenol Orange (W7)	Hintergrund
9	Grün	FCL1	4202	9908500	1068400	0	8840200
			4204	9908500	4867500	0	5041000
		FCL2	4214	9908500	3918600	0	5989900
			4215	9908500	4186100	0	5722400
			4216	9908500	1273100	0	8635400
			4217	9908500	2063700	0	7844900
			4218	9908500	1513900	0	8394600
			4219	9908500	1365200	0	8543300
		LP	4201	9908500	2073700	0	7834800
			4205	9908500	4040600	0	5867900
			4207	9908500	2602600	0	7305900
			4209	9908500	4882800	0	5025800
	Rot	FCL1	4202	9908500	0	1062900	8845600
			4204	9908500	0	5878800	4029700
		FCL2	4214	9908500	0	507150	9401400
			4215	9908500	0	687210	9221300
			4216	9908500	0	545300	9363200
			4217	9908500	0	206620	9701900
			4218	9908500	0	637030	9271500
			4219	9908500	0	554640	9353900
		LP	4201	9908500	0	257320	9651200
			4205	9908500	0	1484400	8424100
			4207	9908500	0	2109600	7798900
			4209	9908500	0	4426100	5482400

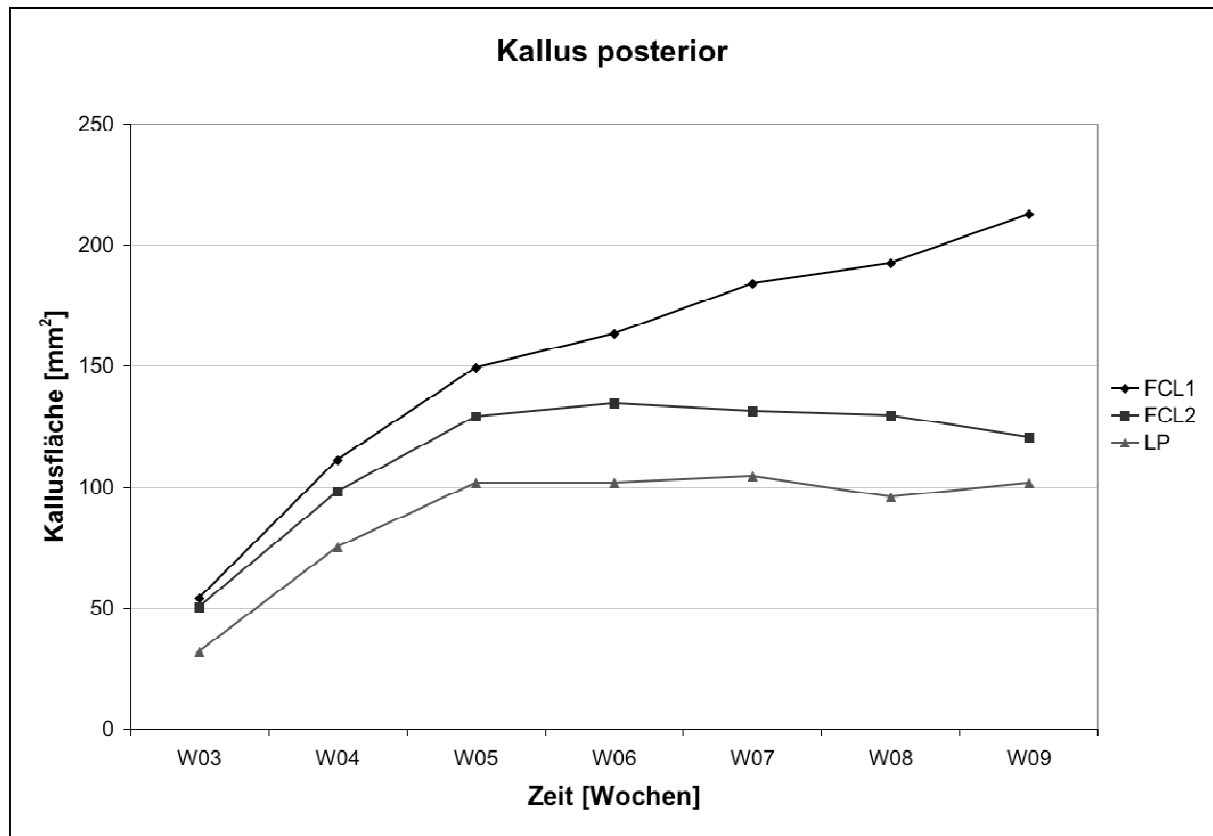
8.2 Diagramme



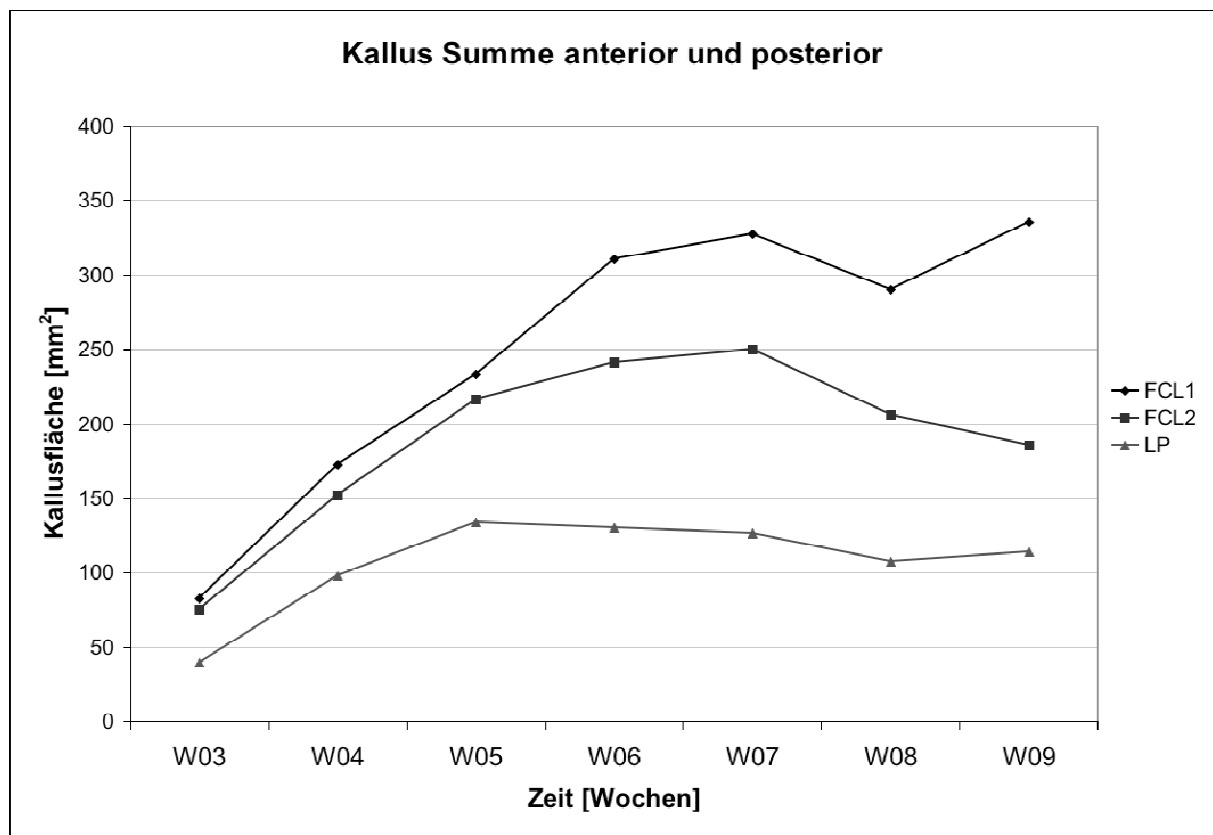
Dia. 1: Mittelwerte des wöchentlich gemessenen Kallusflächeninhaltes in [mm²], Röntgenebene 275° (anterior).



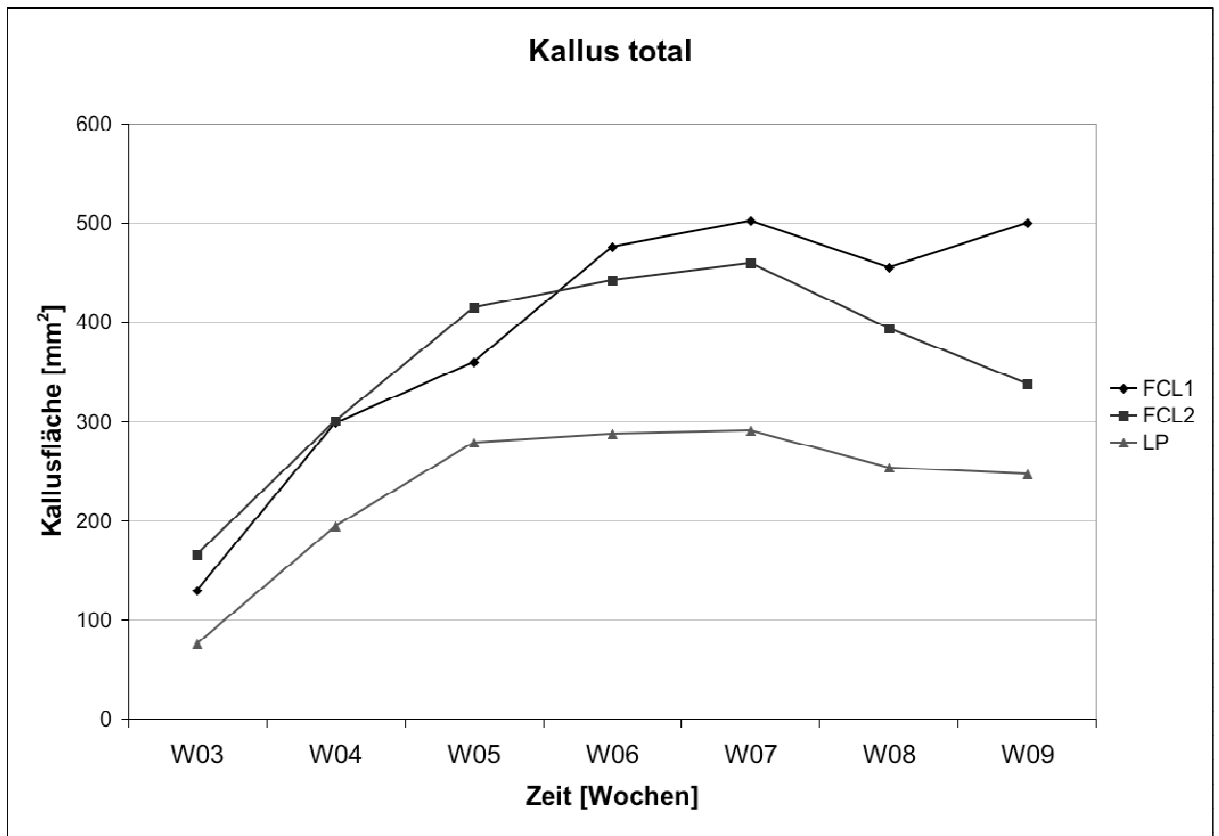
Dia. 2: Mittelwerte des wöchentlich gemessenen Kallusflächeninhaltes in [mm²], Röntgenebene 0° (lateral).



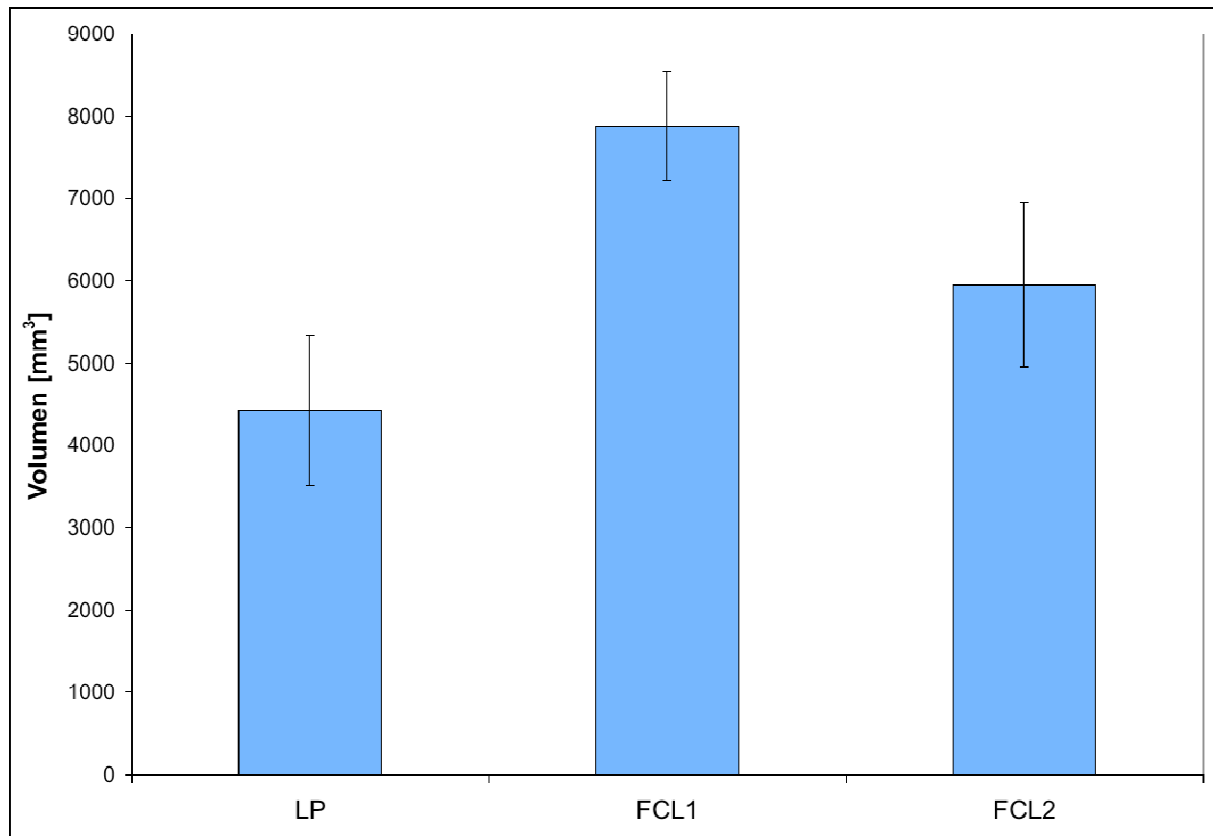
Dia. 3: Mittelwerte des wöchentlich gemessenen Kallusflächeninhaltes in [mm²], Röntgenebene 265° (posterior).



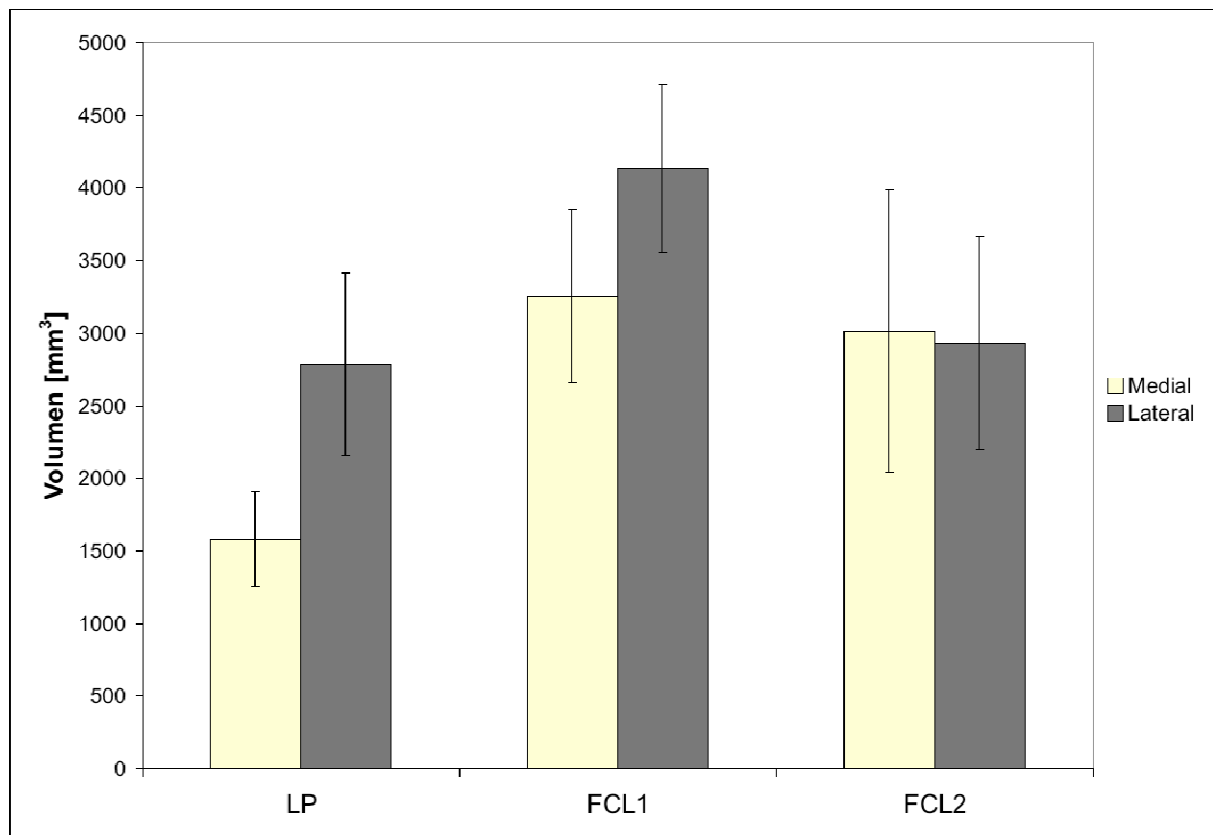
Dia. 4: Summe aus den Mittelwerten des wöchentlich gemessenen Kallusflächeninhaltes in [mm²], anterior und posterior.



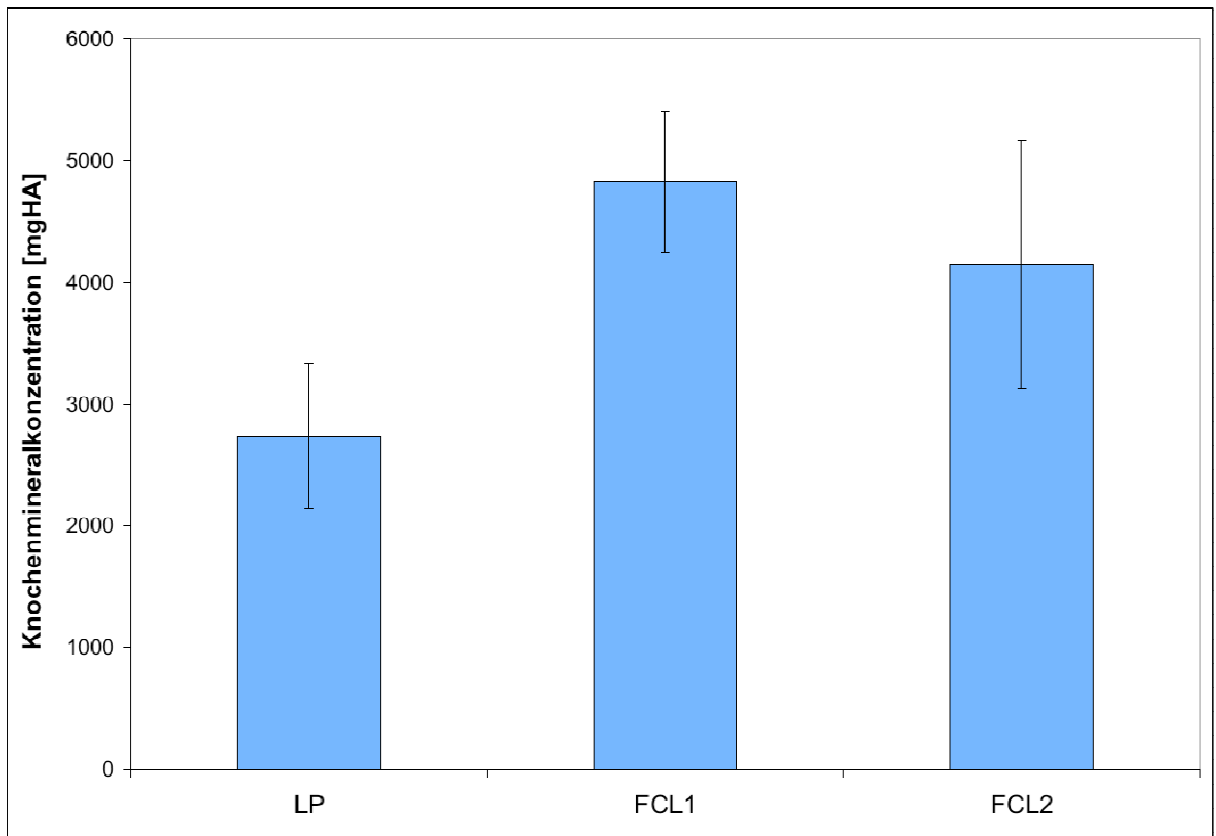
Dia. 5: Summe aus den Mittelwerten des wöchentlich gemessenen Kallusflächeninhaltes in [mm²], anterior, posterior und lateral.



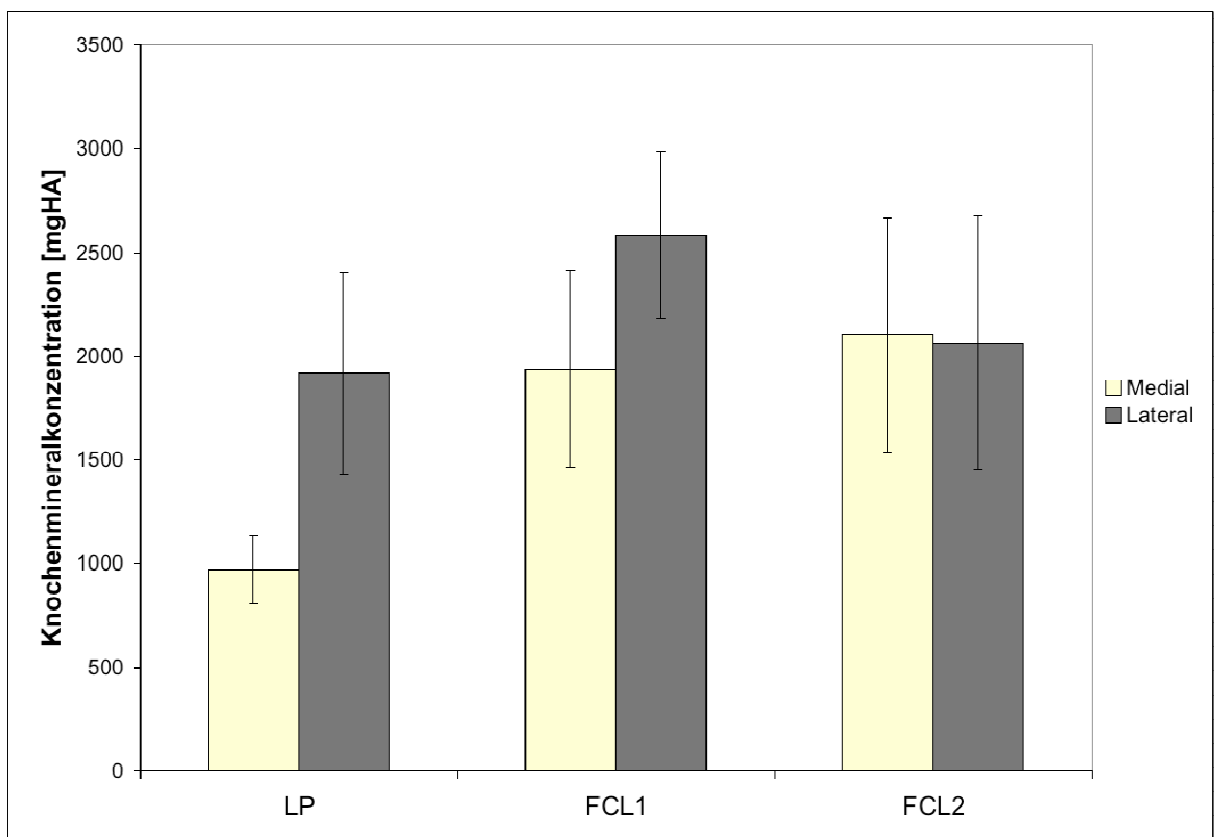
Dia. 6: Mittelwerte und Standardabweichungen der Kallusvolumina in [mm³].



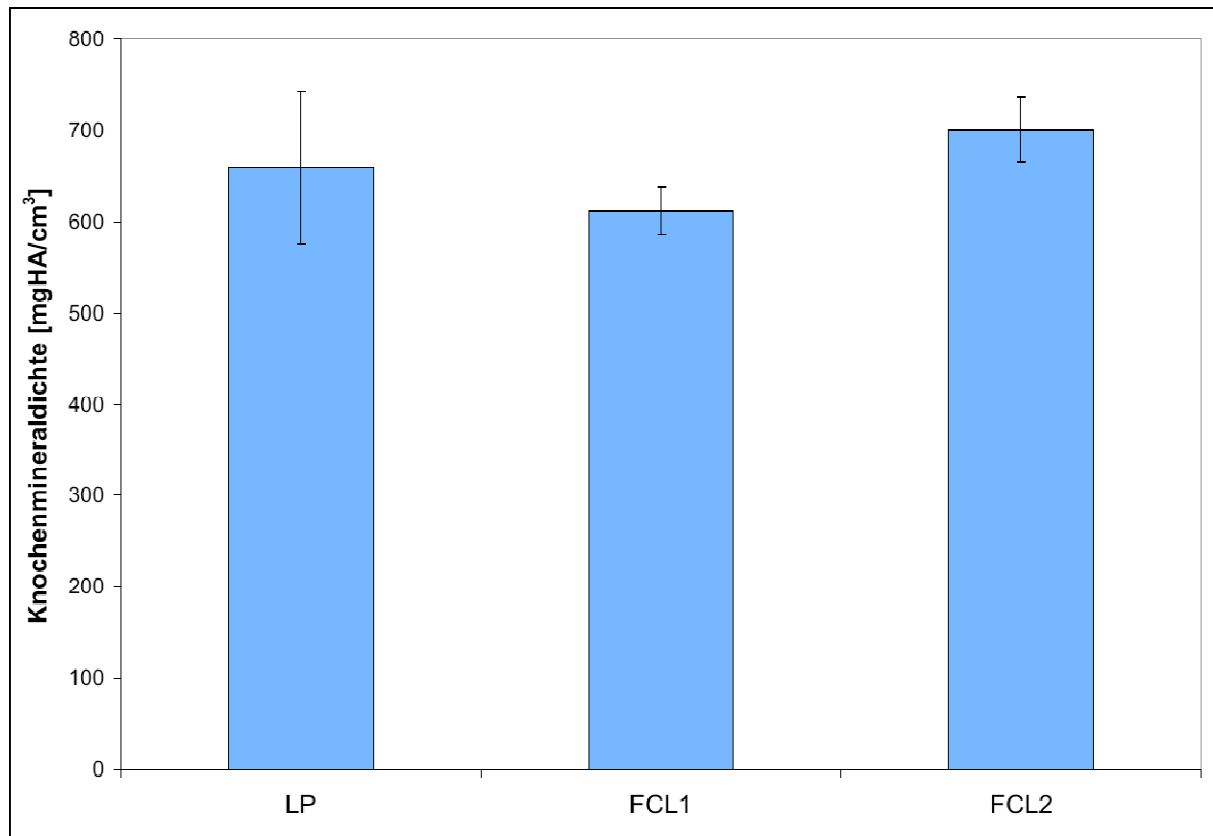
Dia. 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der medialen und lateralen Kallusvolumina in [mm³].



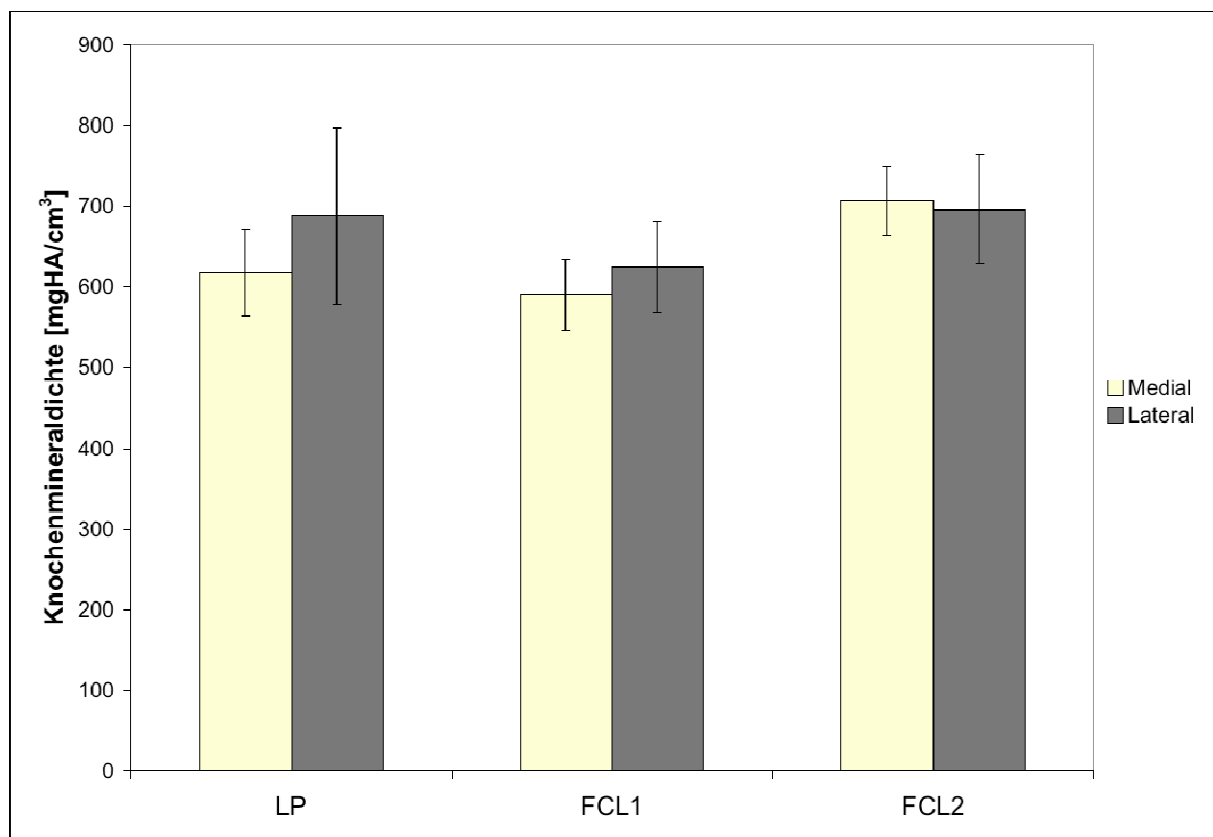
Dia. 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Knochenmineralkonzentrationen in [mg-HA].



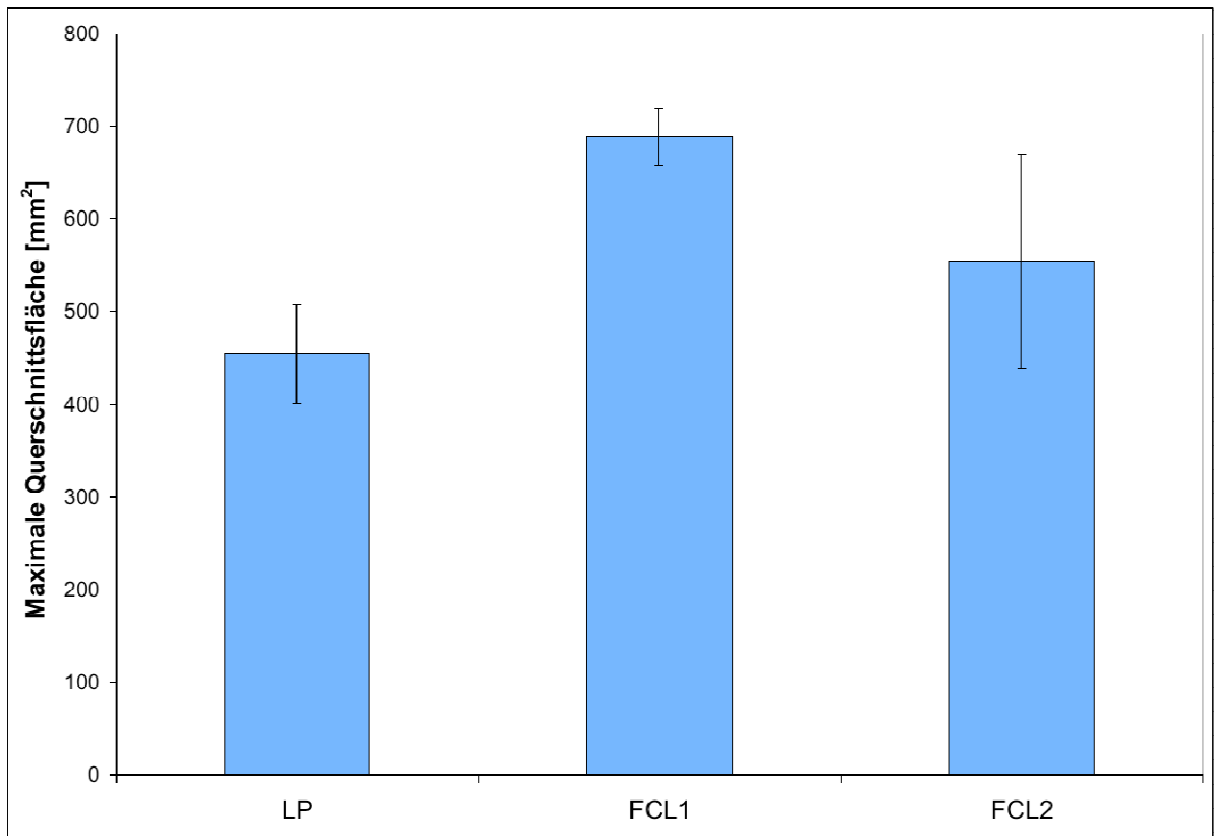
Dia. 9: Mittelwerte und Standardabweichungen der medialen und lateralen Knochenmineralkonzentrationen in [mgHA].



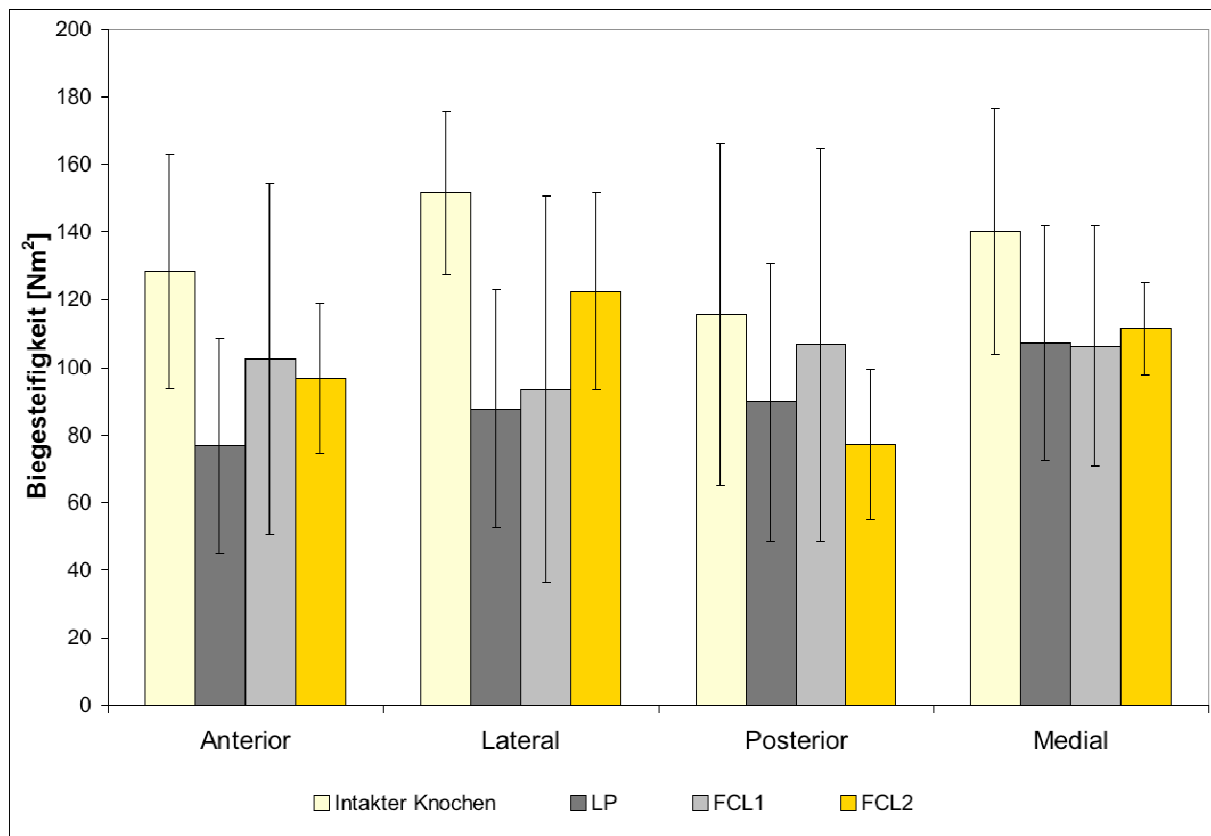
Dia. 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der Knochenmineraldichten in [mg-HA / cm³].



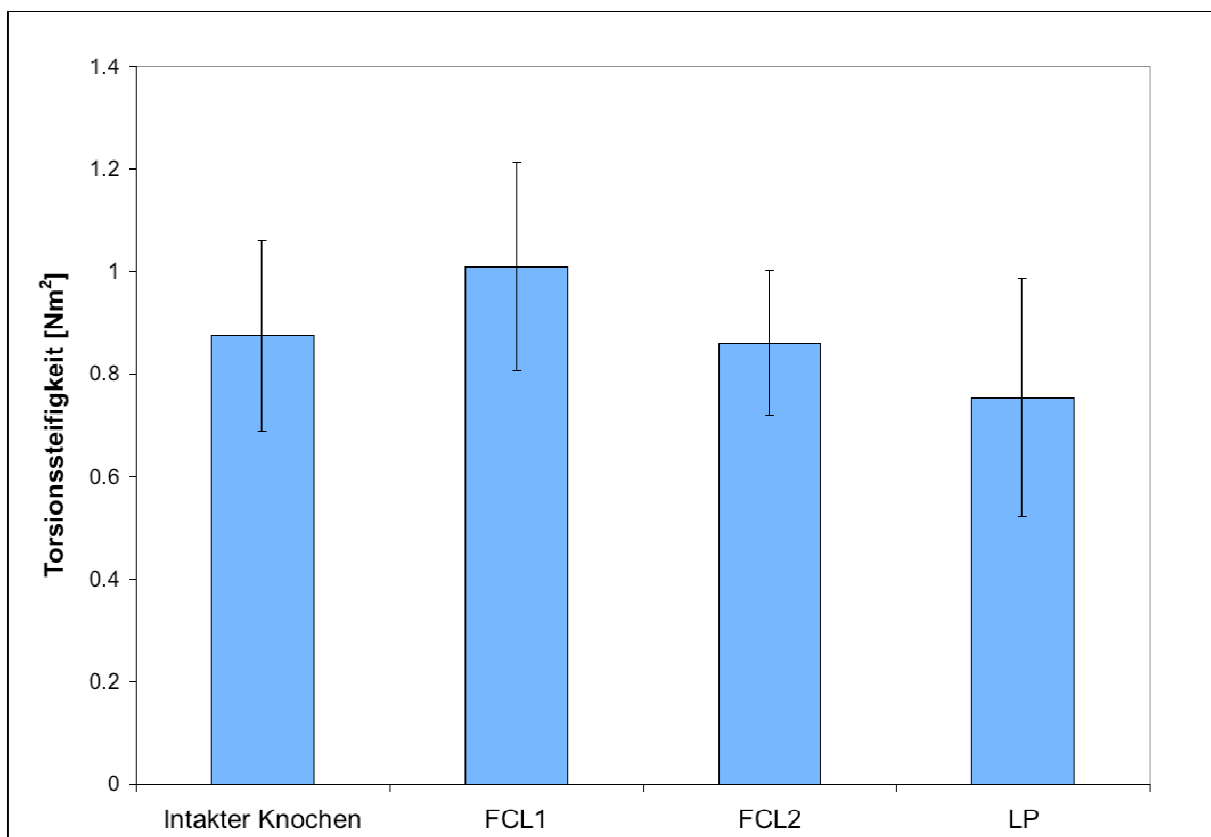
Dia. 11: Mittelwerte und Standardabweichungen der medialen und lateralen Knochenmineraldichten in [mg-HA / cm³].



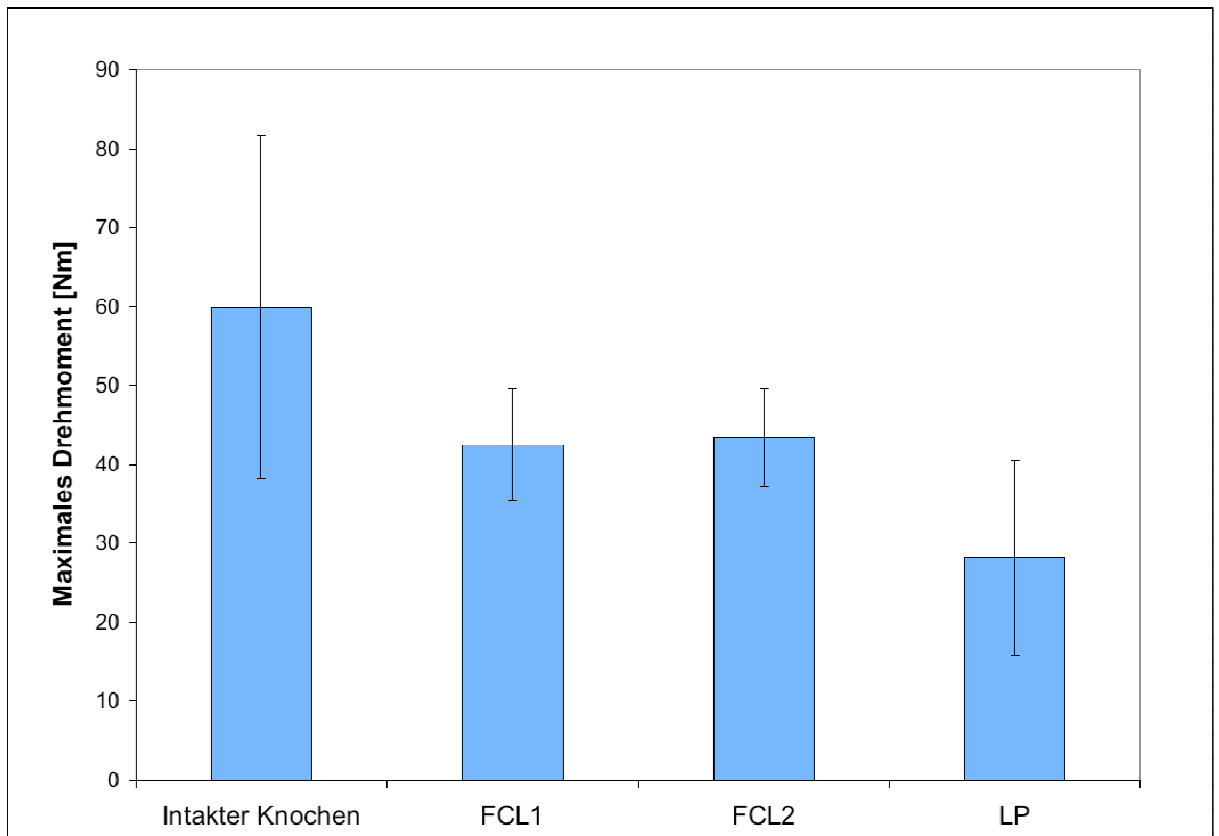
Dia. 12: Mittelwerte und Standardabweichungen der maximalen Querschnittsflächen in [mm^2].



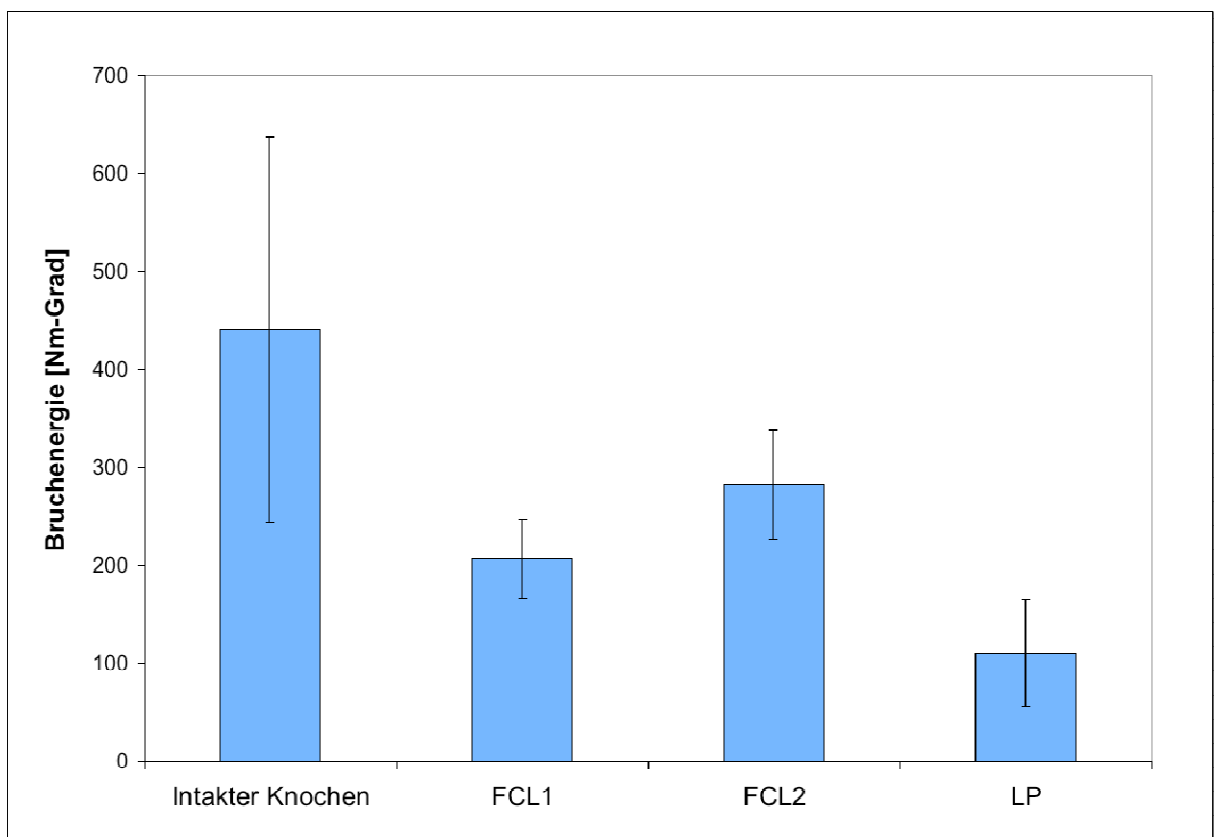
Dia. 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der Biegesteifigkeiten in den 4 Ebenen Anterior, Lateral, Posterior und Medial in $[Nm^2]$.



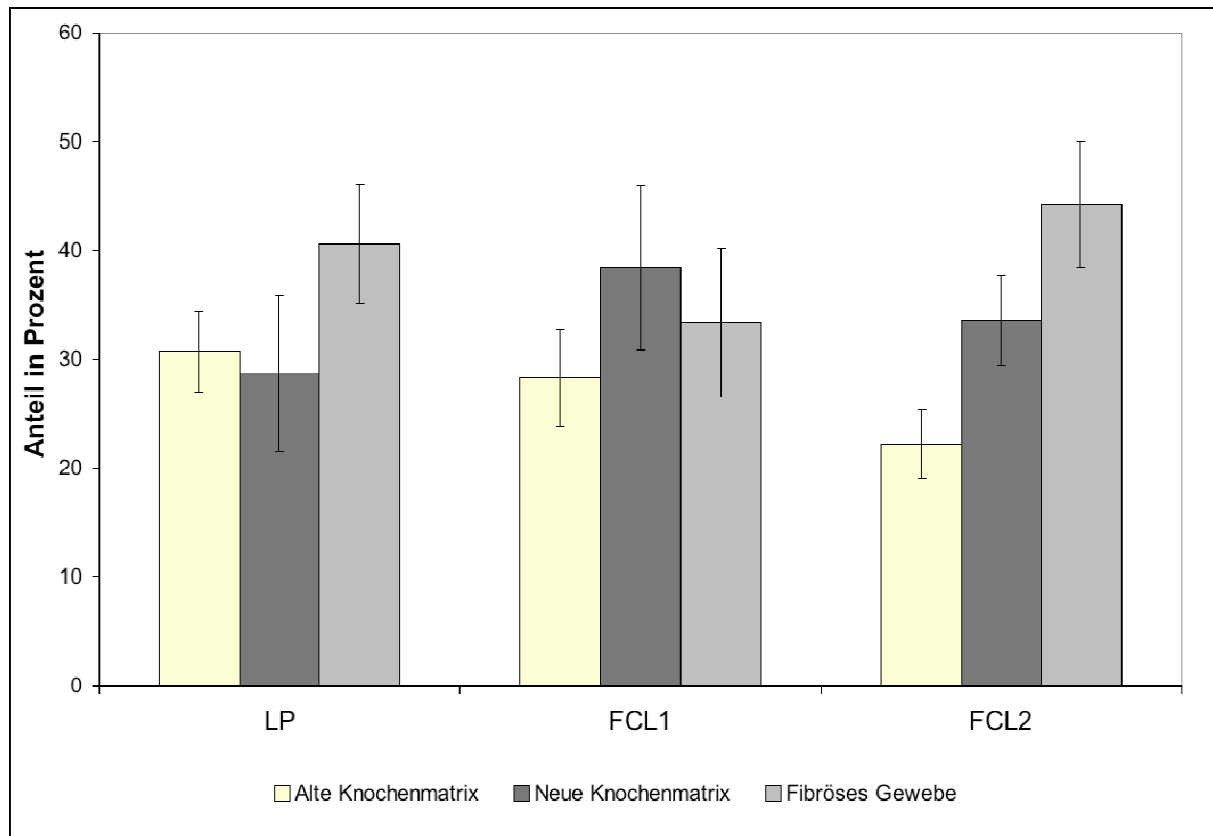
Dia. 14: Mittelwerte und Standardabweichungen der Torsionssteifigkeiten in $[Nm^2]$.



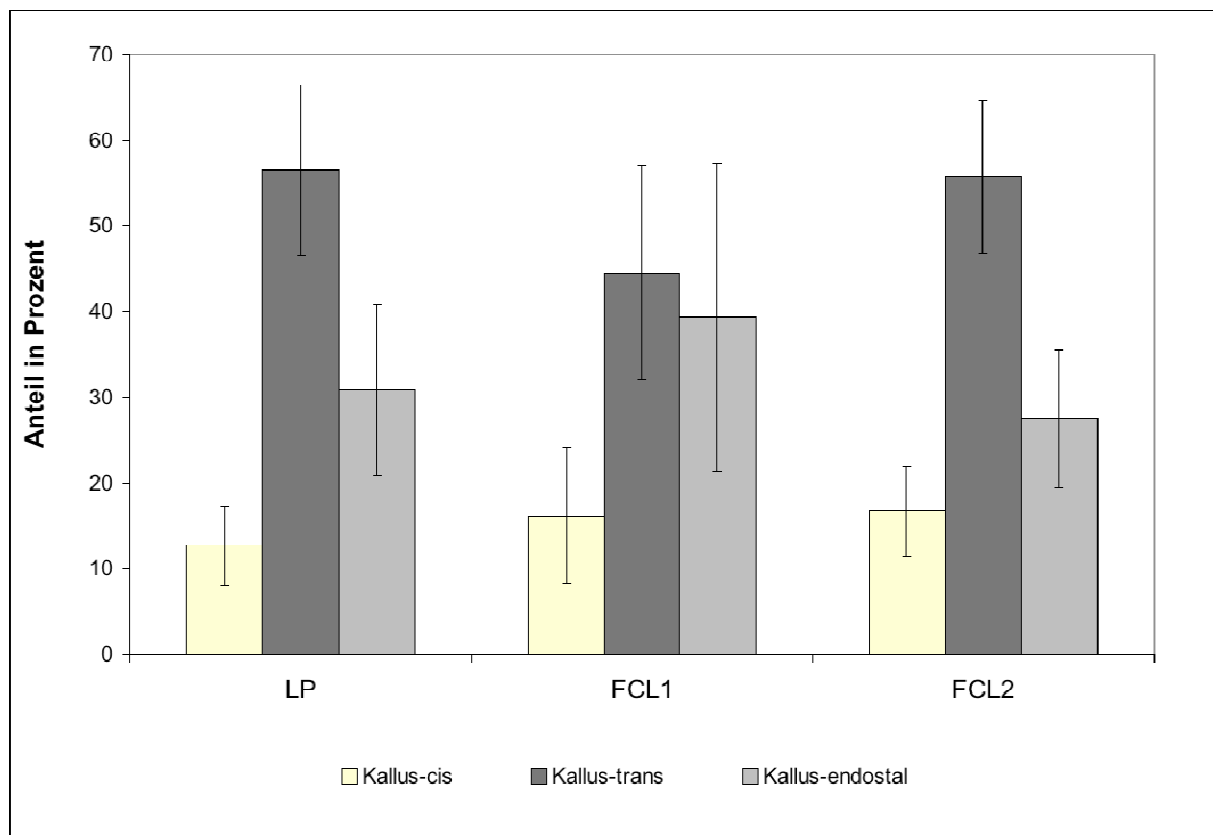
Dia. 15: Mittelwerte und Standardabweichungen der maximalen Drehmomente in [Nm].



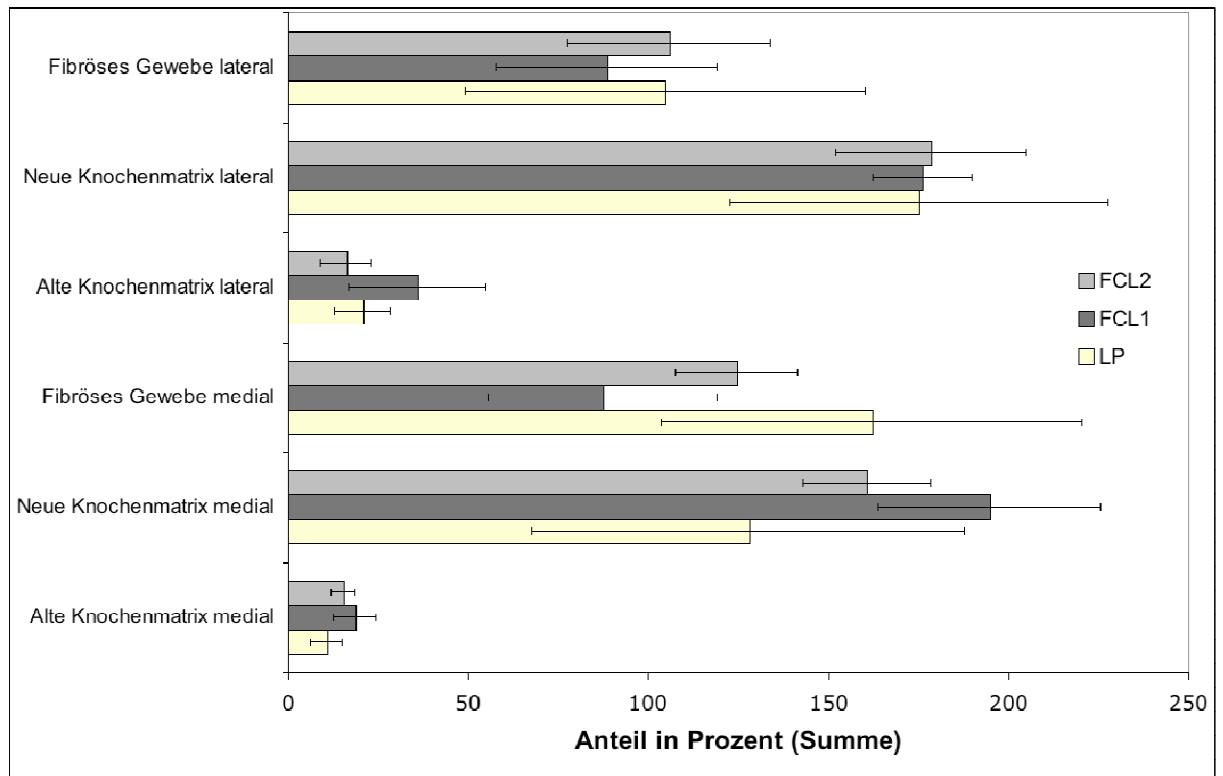
Dia. 16: Mittelwerte und Standardabweichungen der jeweiligen Bruchenergieergebnisse in [Nm-Grad].



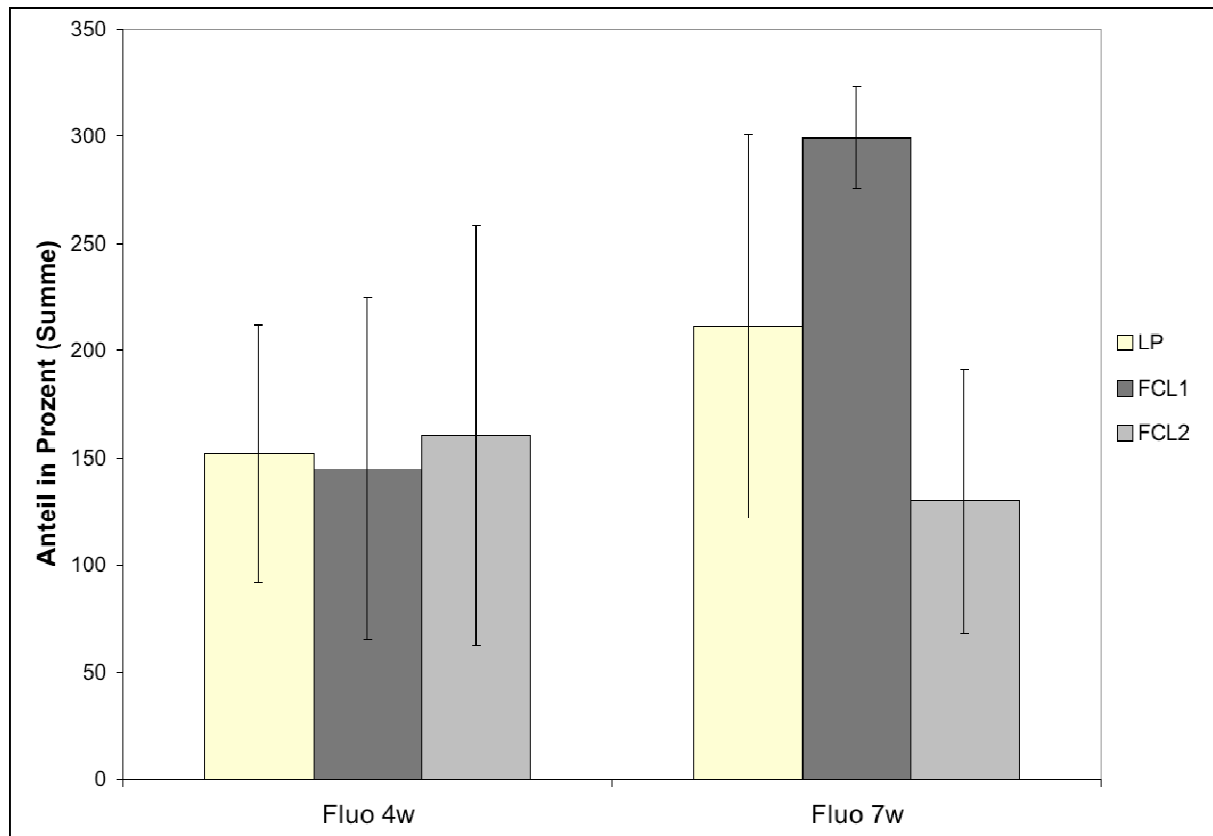
Dia. 17: Prozentuale Gewebezusammensetzung im Dickschnitt auf der Grundlage der jeweiligen Mittelwerte und Standardabweichungen (Übersichtsfärbung).



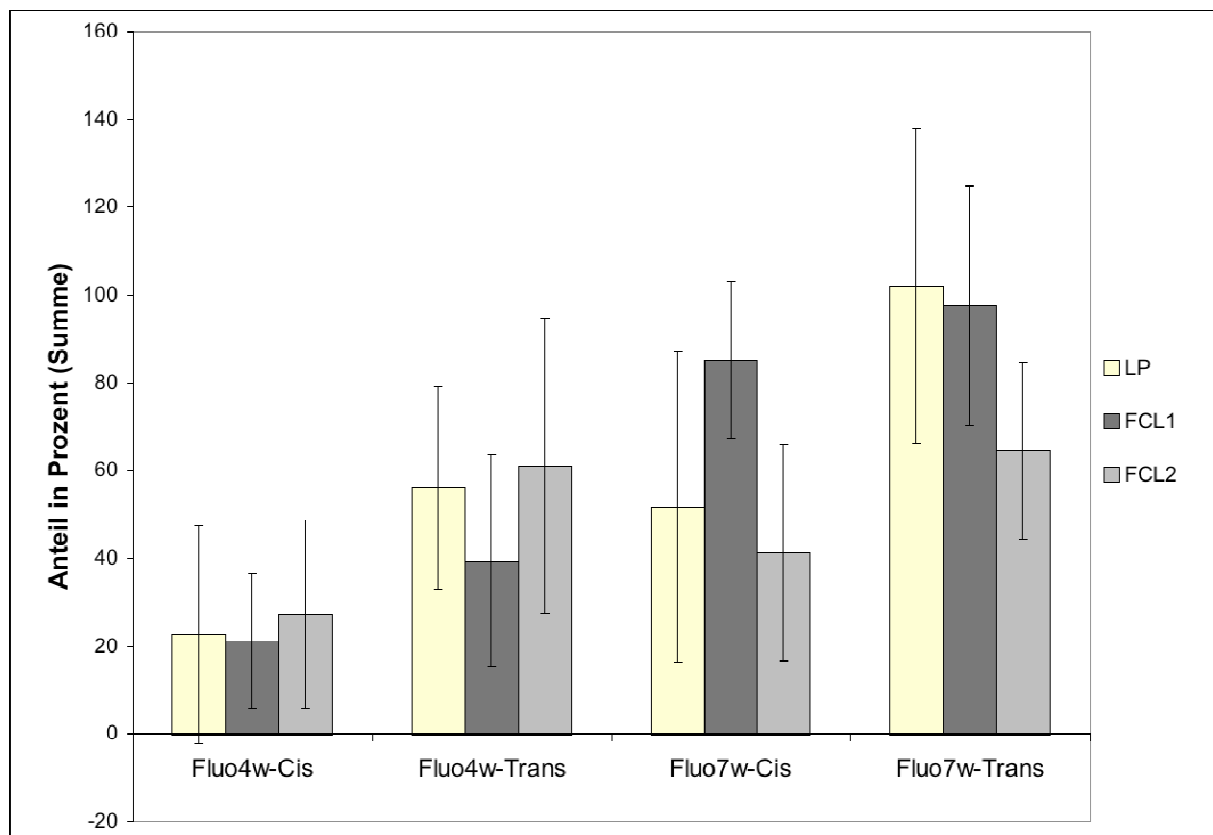
Dia. 18: Prozentuale Kallusverteilung im Dickschnitt auf der Grundlage der jeweiligen Mittelwerte und Standardabweichungen (B-Methode).



Dia. 19: Prozentuale Gewebezusammensetzung im Dickschnitt. Die medialen Werte ergeben sich aus der jeweiligen Summe aus den Positionen 1-3, die lateralen Werte ergeben sich aus der jeweiligen Summe aus den Positionen 4-6. Mittelwerte und Standardabweichungen (M-Methode).



Dia. 20: Prozentuale Knochenaktivität im Fluoreszenzschnitt auf der Grundlage der jeweiligen Mittelwerte und Standardabweichungen (Summen aus 9 einzelnen Positionen).



Dia. 21: Prozentuale Knochenaktivität im Fluoreszenzschnitt. Die Werte für die Cis-Kortex ergeben sich aus der jeweiligen Summe aus den Positionen 1 und 2, die Werte für die Trans-Kortex ergeben sich aus der jeweiligen Summe aus den Positionen 4 und 5. Mittelwerte und Standardabweichungen.

8.3 Abbildungen



Abb. 8:

Links: LP-Schraube

Mitte: FCL2-Schraube

Rechts: FCL1-Schraube



Abb. 9:

Bohr-Führungsplatte zur exakten Platzierung der Schraubenlöcher. Bohrhülsen an den Positionen 1, 3, 4 und 6; 3,5 mm unicortical Schrauben zur vorübergehenden Fixation der Platte am Knochen; 4 justierbare Spikes und Gummiringe zur Wahrung des Knochen-Platten-Abstandes.



Abb. 10:

Position des Implantats an der medialen Tibiaseite mit 3mm Osteotomiespalt.



Abb. 11:

Schaf Nr. 4203 post operationem im Hängsystem mit Castverband.

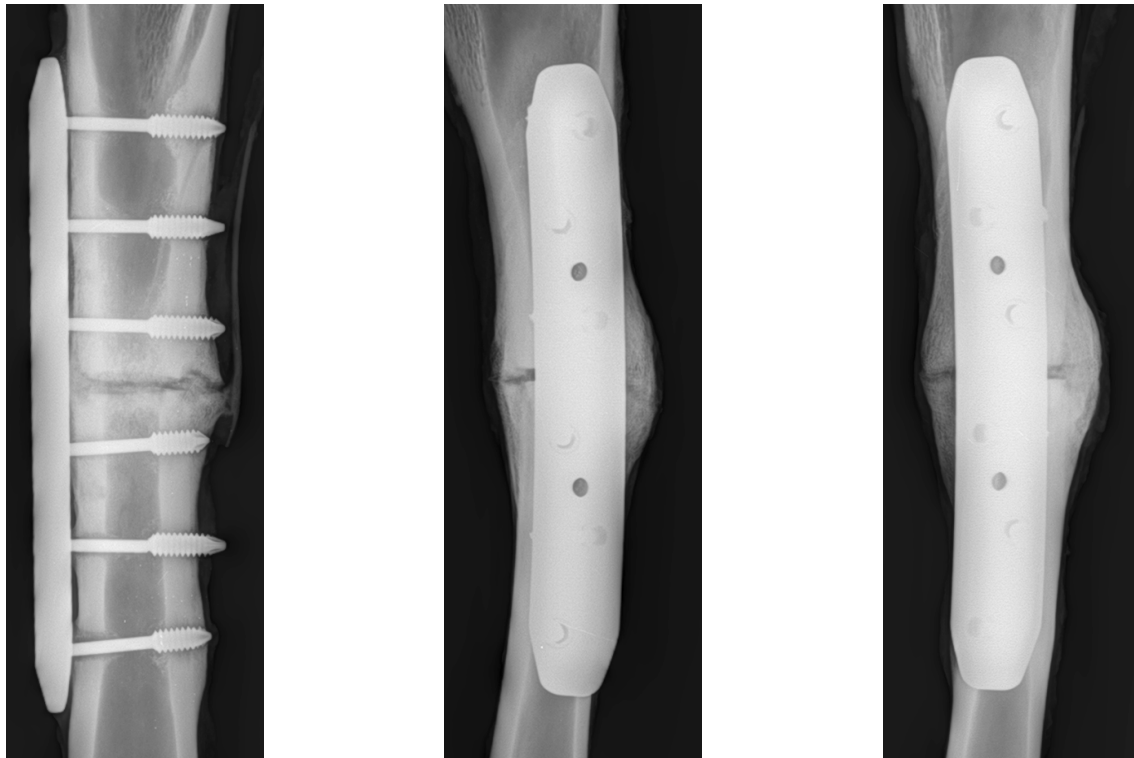


Abb. 12:
Postoperative Röntgenbilder
Links: 0°-Ebene
Mitte: 275°-Ebene
Rechts: 265°-Ebene

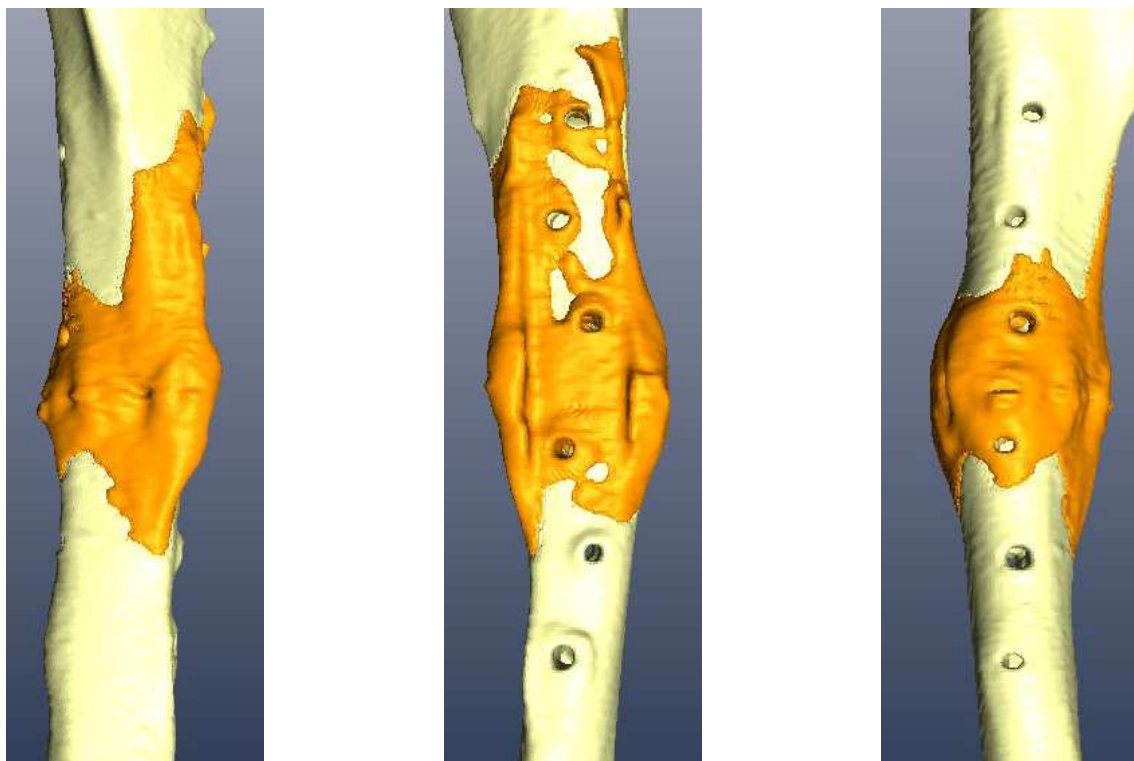


Abb. 13:
Computertomographische Darstellung der Knochenproben.
Basierend auf der unterschiedlichen Dichte ist Kallusgewebe gelb sichtbar gemacht.
Links: Ansicht von anterior
Mitte: Ansicht von medial
Rechts: Ansicht von lateral



Abb. 14:
Versuchsaufbau zur Testung der Biegesteifigkeit
4-Punkt-Biegung.

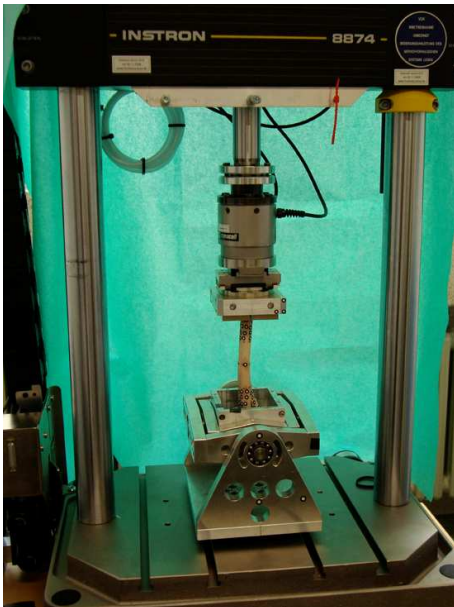


Abb. 15:
Versuchsaufbau zur Testung der Torsionssteifigkeit,
dem maximalen Drehmoment sowie der Bruchenergie.



Abb. 16:
Bruchmuster nach maximaler Torsion.
Die Bruchlinie ist im oberen Drittel zu erkennen.



Abb. 17:
Knochen nach Implantatentfernung von medial.
(FCL1-Gruppe)

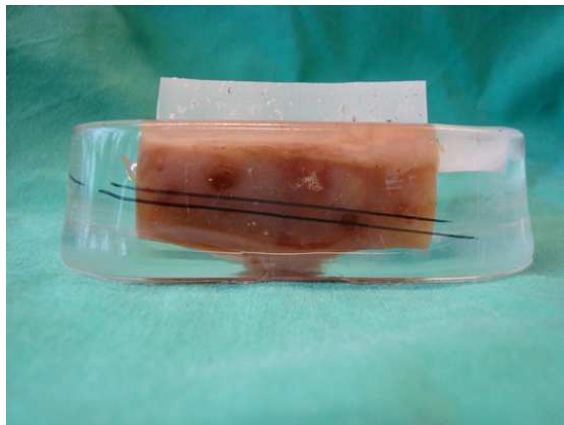


Abb. 18:
Knochenprobe nach Einbettung in PMMA.
Hilfslinien als Vorbereitung auf die Herstellung von
histologischen Schnitten.
(LP-Gruppe)



Abb. 19:
Dickschnitt einer Probe, gefärbt mit Toluidinblau.
(FCL1-Gruppe)

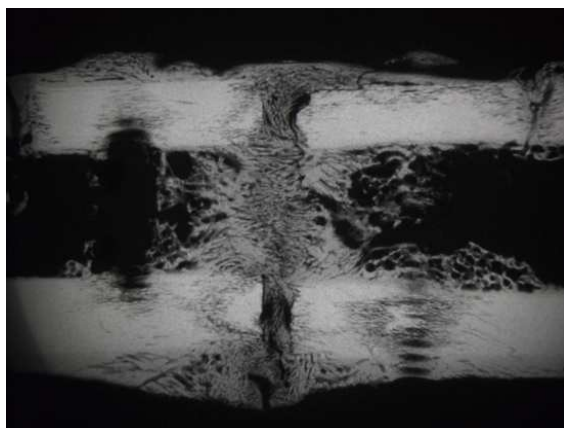


Abb. 20:
Mikroradiographie eines Dickschnittes.
(FCL1-Gruppe)

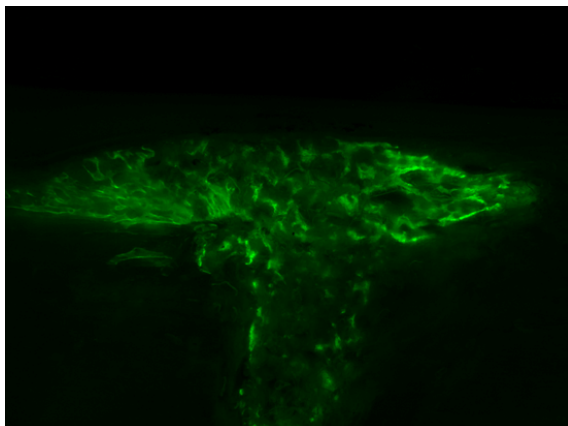


Abb. 21:
Fluoreszenzschnitt im Bereich der Cis-Kortex,
4 Wochen post operationem, Calcein Grün,
Position 1.

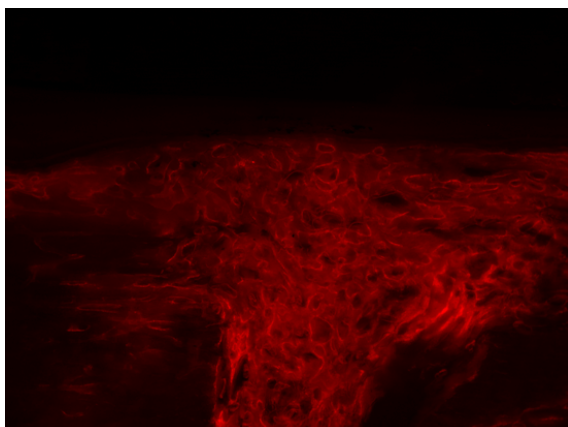


Abb. 22:
Fluoreszenzschnitt im Bereich der Cis-Kortex,
7 Wochen post operationem, Xylenol Orange,
Position 1.

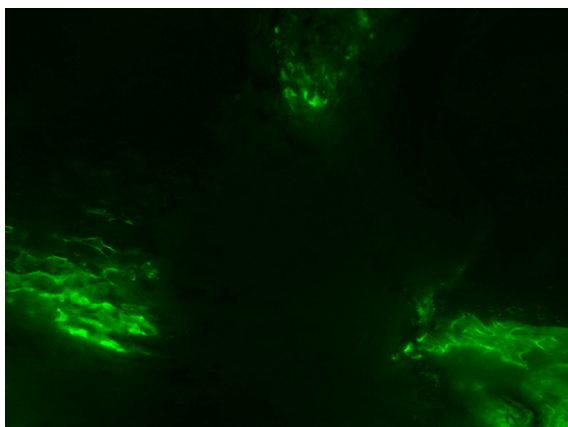


Abb. 23:
Fluoreszenzschnitt im Bereich der Trans-Kortex,
4 Wochen post operationem, Calcein Grün,
Position 5.

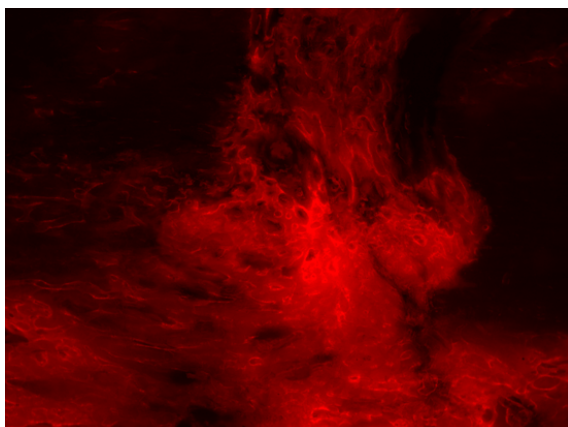


Abb. 24:
Fluoreszenzschnitt im Bereich der Trans-Kortex,
7 Wochen post operationem, Xylenol Orange,
Position 5.

Danksagung

Mein besonderer Dank geht an Frau **Prof. Dr. Brigitte von Rechenberg** für die Überlassung des Themas sowie die grossartige Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit. Vielen Dank für die uneingeschränkte Loyalität und Menschlichkeit sowie für den Anstoss und die Hilfe bei der Suche nach dem richtigen Weg.

Bei Herrn **Prof. Dr. Jörg A. Auer**, Direktor der Pferdeklinik der Vetsuisse-Fakultät Zürich, möchte ich mich herzlich für die Unterstützung der MSRU bedanken.

Herrn **Prof. Dr. Karl Nuss** danke ich vielmals für die Übernahme des Korreferates und die ausserordentlich schnelle und konstruktive Überarbeitung.

Meinem Projektpartner **Ph.D. Michael Bottlang** und seinem Team aus Seattle danke ich herzlich für die geniale Idee und die Unterstützung bei der Durchführung des Projektes.

Den Mitarbeitern des Biomechanischen Forschungslabors der BG-Unfallklinik Murnau, im Besonderen Frau **Julia Körber** und Herrn **Prof. Dr. Peter Augat** danke ich für die kompetente und geduldige Hilfe bei der Durchführung der mechanischen Testungen, CT-Scans sowie der statistischen Auswertung.

Vielen Dank an das VAS-Team **Dr. Michèle Sidler** und **Dr. Peter Kronen** für die professionelle Anästhesie der Schafe sowie die zuverlässige und unentbehrliche Hilfe im OP.

Dem Team der **Rinderklinik** möchte ich für die Unterstützung bei der Realisierung der Operationen herzlich danken.

Vielen Dank auch an Frau **Kati Zlinsky**, Frau **Sabina Wunderlin** und Frau **Dr. Monika Hilbe** für die Herstellung der Fluoreszenzfarbstoffe bzw. die Hilfe bei der Bearbeitung der schönen histologischen Präparate.

Rainer Egle und **Gabi Schmid** danke ich vielmals für ihre geduldige Unterstützung bei allen technischen und administrativen Angelegenheiten.

Der **Familie Knüsel** möchte ich herzlich für die hervorragende Betreuung der MSRU-Schafe sowie für die unvergesslichen Feste auf dem Staffelegg-Hof danken. Desweiteren gilt mein Dank unserer **Silvana** für die Pflege der Versuchstiere vor Ort.

Für die grossartige Hilfe bei den etwas speziellen Röntgenuntersuchungen und natürlich für die geniale (lässige) Zeit da oben im Strickhof möchte ich all meinen Kollegen aus der MSRU herzlich danken: **Philipp Conze, Tedyda Dobak, Sabrina Ernst, Nathalie Fouché, Hannah Junge, Käthi Kämpf, Karina Klein, Sabine Koch, Peter Kronen, Nico Lagerpusch, Bernadette Linsbichler, Silvana Manzanell, Ingmar Meth, Isabell Mosch, Sven Nielsen, Katja Nuss, Francis Pusch, Marcella von Salis-Soglio, Michèle Sidler, Christine Sievert, Stefan Stübinger, Anja Waselau, Martin Waselau und Andrea Wolk.**

Mein grosser Dank gilt **Karina** für all die Antworten auf sämtliche Fragen, ihre unermüdliche Hilfsbereitschaft und ansteckende Fröhlichkeit.

Danke **Tini** und **Puschel** für die stete Hilfe, Freundschaft und die schöne Zeit im Turm.

Kerstin Storch möchte ich herzlich für die wirklich konstruktive Durchsicht dieser Arbeit sowie für Ihre Unterstützung und langjährige Freundschaft danken.

Ein dickes Dankeschön geht natürlich noch an meine **Familie** und all meine **Freunde**, die immer an mich geglaubt und mich auf meinem Weg begleitet haben. Insbesondere möchte ich **Susanne Voigt** danken, ohne die ich das Studium wahrscheinlich nicht geschafft hätte. Einmal mehr habe ich erfahren, was wahre Freundschaft ist.

Meinem Freund **Jan Sittig** danke ich für seine Liebe und die charmante Regelung unseres Lebens fern der Arbeitswelt.

Unendlich gross und daher kaum ausdrückbar ist der Dank, den ich meiner Mutter **Elfriede Lesser** entgegenbringen möchte. Ich danke ihr aus ganzem Herzen für die Liebe, die unendliche Zeit, das grosse Herz und nicht zuletzt auch für die finanzielle Unterstützung!

Lebenslauf

Name	Maren Lesser
Geburtsdatum	24.07.1980
Geburtsort	Schmalkalden, Deutschland
Nationalität	Deutsch
1989-1993	Staatliche Grundschule Brotterode
1993-1994	Staatliches Gymnasium Schmalkalden
1994-1999	Werratal-Gymnasium Schwallungen
1999	Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
1999-2000	Freiwilliges ökologisches Jahr im Landwirtschaftsbetrieb Starun, Trusetal, Deutschland
2000-2006	Studium der Veterinärmedizin an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig, Deutschland
2006-2008	Angestellte Tierärztin in der Tierarztpraxis Dr. H. Wentges, Billerbeck, Deutschland
2008-2010	Mitarbeit und Anfertigung der Dissertation in der Musculoskeletal Research Unit (MSRU), unter der Leitung von Frau Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg am Departement für Pferde der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich, Schweiz
Seit Juni 2010	Angestellte Tierärztin in der Abteilung Innere Medizin am Departement für Nutztiere der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich, Schweiz

